

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

L'IMMUNITÉ NATURELLE ET ACQUISE CHEZ LA CHENILLE DE *GALLERIA MELLONELLA*

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

par S. METALNIKOW.

PESTE

Dans notre premier mémoire (1) nous avons étudié l'immunité de la chenille envers les microbes du groupe A, c'est-à-dire des microbes qui sont à peu près complètement inoffensifs pour les chenilles (tuberculose, diphtérie, tétanos, etc.).

Nous avons démontré que les chenilles luttent contre tous ces microbes par deux moyens : par la phagocytose et par la formation des capsules. C'est pourquoi nous avons pu affirmer que l'immunité naturelle des chenilles est une immunité purement cellulaire.

Pouvons-nous dire la même chose sur l'immunité acquise ? Jusqu'à présent nous savons très peu de chose sur l'immunité acquise des invertébrés et particulièrement des insectes. Sont-ils capables d'élaborer les anticorps et quel rôle jouent ces anticorps dans les processus de la lutte contre les microbes ? Pour résoudre cette question il fallait s'adresser aux microbes patho-

(1) Ces *Annales*, 1920.

gènes pour les chenilles, c'est-à-dire aux microbes du groupe B. Ce groupe contient des microbes contre lesquels les chenilles ont une immunité incomplète (peste, charbon, *Perfringens*, etc.). Elles ne résistent pas à de fortes doses. Par contre, elles supportent des doses plus faibles, mais en tout cas des doses très considérables par rapport aux petites dimensions des chenilles. En premier lieu je me suis adressé à la peste, qui me paraissait particulièrement intéressante.

Le microbe de la peste est un microbe des plus redoutables contre lequel les animaux supérieurs n'ont presque pas de moyens de défense. *Secundo*, la peste est transmise le plus fréquemment par les insectes. Il serait intéressant de savoir comment réagissent ceux-ci contre l'infection pesteuse.

C'est grâce à l'amabilité du D^r Dujardin-Beaumetz, qui m'a donné l'autorisation de travailler dans son laboratoire et m'a aimablement fourni les cultures pesteuses, que j'ai pu faire une série d'expériences.

Je me fais un plaisir de remercier le D^r Dujardin-Beaumetz de son aimable concours.

J'ai eu à ma disposition deux cultures : une très virulente, qui donnait l'infection mortelle aux rats par une simple piqûre, l'autre très faible.

Comme d'ordinaire, je préparai deux émulsions : une plus épaisse (une anse de culture épaisse dans 1/2 cent. cube d'eau physiologique), l'autre plus étendue en prélevant une ou deux anses d'émulsion forte et en y ajoutant 1/2 cent. cube d'eau physiologique.

EXPÉRIENCES n° 39. — 10 chenilles reçurent 1/80 c.c. d'une jeune culture de peste très virulente en émulsion faible :

Après 24 heures . . .	9 vivantes,	1 morte;
— 48 heures . . .	9	— 1 morte;
— 5 à 12 jours . .	9 chrysalides et papillons.	

EXPÉRIENCES n° 40. — 10 chenilles reçurent 1/80 c.c. d'une jeune culture de peste très virulente (émulsion épaisse, dose forte) :

En 24 heures	6 vivantes, 4 mortes;
— 48 heures	6 —
— 5 à 12 jours	6 chrysalides et papillons.

En examinant le sang des chenilles infectées, nous avons pu constater que la phagocytose commence aussitôt après l'intro-

duction des microbes. Après quarante-soixante minutes tous les phagocytes sont bourrés de microbes (fig. 1).

Mais il y a encore beaucoup de microbes dans le sang hors

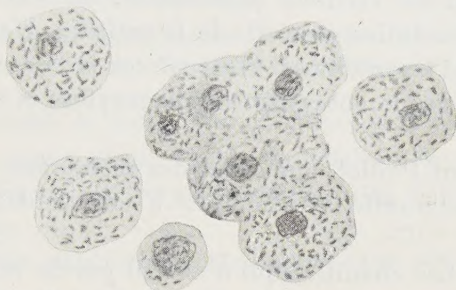


FIGURE 1.

des phagocytes. Après deux à trois heures il se produit une crise dans l'évolution de la maladie.

Chez les chenilles qui se rétablissent dans la suite, tous les microbes sont très vite englobés et digérés.

On trouve dans les phagocytes et leurs agglomérations beau-

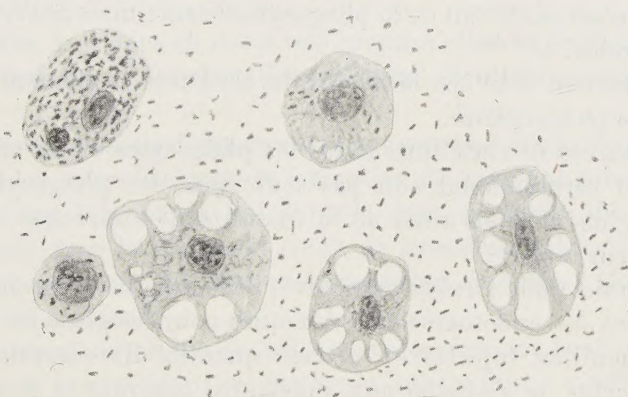


FIGURE 2.

coup de pigments brun noir, qui sont le résultat de l'oxydation et de la digestion intense. Chez les chenilles qui meurent dans la suite, on constate dans les premières trois-quatre heures une aggravation de la maladie. Les microbes pullulent en abondance, malgré la phagocytose intense (fig. 2).

Particulièrement intéressante est la phagocytose pendant l'infection mortelle. Les phagocytes sont bourrés de microbes qui sont sûrement digérés à l'intérieur des phagocytes, car on trouve souvent des vacuoles pigmentées. Mais la phagocytose n'arrête pas l'évolution mortelle de la maladie. L'animal meurt en phagocytant les microbes. Souvent ces faits ont été présentés comme un argument contre la phagocytose et son rôle dans l'immunité.

Dernièrement Paillot, qui a fait des recherches très intéressantes sur l'immunité des chenilles, a exposé des idées semblables (1).

Il écrit : « Les chenilles qui n'offrent pas de résistance aux infections comme par exemple celles de *Pieris brassicæ*, *Vanessa urticæ* sont très sensibles à l'action des bacilles et cependant les micronucléocytes et même les autres éléments du sang les phagocytent activement. Un certain nombre de microbes entomophytes se comportent comme le *B. liparis*; englobés en grand nombre, ils deviennent de véritables parasites pour ces cellules et sont alors pathogènes pour leurs hôtes. Il y a là une indication très nette sinon une preuve que l'immunité la plus active n'est pas le fait de la phagocytose seule mais des réactions humorales. »

Cependant tous ces faits s'expliquent très facilement par la théorie phagocytaire.

Le succès de cette lutte entre les phagocytes et les microbes dépend certainement non pas seulement des phagocytes, qui les englobent, mais aussi de la quantité des microbes injectés et de leur toxicité.

Comme nous l'avons démontré, beaucoup de microbes contiennent des endotoxines très toxiques pour les globules blancs des chenilles. Injectés en grande quantité ils empêchent les phagocytes de s'adapter aux substances toxiques et de digérer les microbes englobés. C'est pourquoi, malgré la phagocytose, il y a destruction des leucocytes et infection mortelle de l'animal.

Si, au contraire, la quantité des microbes injectés n'est pas très grande, les phagocytes s'adaptent facilement et digèrent tous les microbes. Tout cela se passe très vite. Si en trois-quatre

(1) C. R. Soc. Biol., 1920, p. 423.

heures les phagocytes prennent le dessus, la chenille se rétablit et reste vivante.

EXPÉRIENCES n° 41. — 10 chenilles reçurent 1/80 c.c. d'une jeune culture de peste peu virulente (émulsion épaisse) :

Après 24-48 heures, toutes les chenilles sont vivantes;

— 5-12 jours, chrysalides et papillons.

En examinant le sang des chenilles mourantes et mortes de la peste, nous avons toujours constaté la diminution et souvent la disparition des globules du sang et comme résultat la septicémie.

J'ai fait des expériences analogues avec des cultures peu

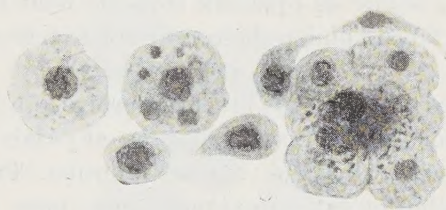


FIGURE 3.

virulentes. Injectées en doses très grandes elles ne produisaient aucun malaise et les chenilles injectées se rétablissaient très vite.

L'examen du sang démontre une phagocytose et une digestion intense des microbes avec la formation du pigment brun-noir (fig. 3). Sur les coupes j'ai trouvé, dans la cavité du corps et surtout dans la région du cœur, de grandes agglomérations de phagocytes avec des masses de microbes dégénérés et transformés en pigment.

J'ai trouvé aussi les capsules avec le pigment brun-noir à l'intérieur comme dans le cas de la tuberculose, tandis que chez les chenilles tuberculeuses on trouvait toujours une très grande quantité de ces capsules (souvent une dizaine, même plusieurs dizaines sur une coupe); chez les chenilles pesteuses, les capsules sont très rares.

Cela s'explique très facilement par le fait que les microbes pesteux n'ayant pas d'enveloppes cireuses sont plus facilement digérés.

En nous basant sur ces expériences, nous pouvons dire que les chenilles des mites des abeilles possèdent une immunité considérable envers la peste, mais cette immunité n'est pas aussi complète que vis-à-vis de la tuberculose ou la diphtérie.

PNEUMOCOQUES

En cherchant les microbes les plus intéressants pour l'étude de l'immunité acquise, je me suis arrêté sur les pneumocoques.

Le D^r Truche, qui s'en occupe depuis longtemps à l'Institut Pasteur, m'a aimablement fourni différentes cultures de pneumocoque et m'a donné de précieux conseils pour l'étude de ce microbe. Je me fais un plaisir de le remercier ici de son aimable concours.

Mes premières observations me firent croire que les chenilles sont très peu sensibles au pneumocoque et j'étais déjà prêt à abandonner mes recherches sur ce microbe. Pourtant mes expériences ultérieures prouvèrent que mes conclusions n'étaient pas justifiées. Le pneumocoque est un microbe qui perd très facilement sa virulence dans les cultures. Il faut souvent le renforcer par passages sur les animaux.

Des cultures renforcées se montrèrent très virulentes et tuèrent mes chenilles en quinze à vingt-quatre heures.

Mais dans trois à cinq jours ces cultures perdaient de nouveau leur virulence.

J'ai essayé, d'après les indications du D^r Truche, quatre différentes espèces de pneumocoques :

- 1^o Une culture complètement avirulente pour les souris et autres animaux supérieurs ;
- 2^o Culture I ;
- 3^o Culture II ;
- 4^o Culture III.

La culture avirulente est aussi inoffensive pour les chenilles. On peut l'injecter en grande quantité sans provoquer aucun malaise.

Les cultures I et II sont virulentes quand elles sont injectées en doses fortes (c'est-à-dire 1/80 cent. cube à 1/40 cent. cube de culture de dix-huit à vingt-quatre heures sur bouillon).

Des doses faibles (1 à 5 anses d'une jeune culture en bouillon dans 1/2 cent. cube d'eau physiologique) ne donnent pas la maladie.

La virulence de ces cultures est très variable et fragile, souvent elle s'atténue très vite et elle peut se renforcer seulement par passages sur les animaux. Beaucoup plus virulente est la culture III ; sa virulence est plus stable et se conserve plus longtemps.

Injectée même en dose très petite (1/160 cent. cube) elle donnait toujours l'infection mortelle.

Les chenilles contaminées trois à cinq heures après l'infec-

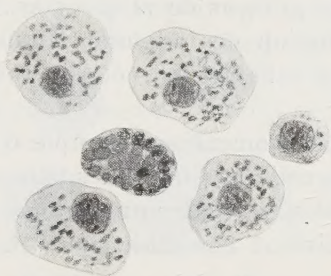


FIGURE 4.

tion se montraient très malades. Elles remuaient très lentement et devenaient brun-noir. Mauvais signe ! Car le noircissement du sang chez les chenilles est toujours le résultat d'une septicémie.

On sait qu'il est possible de suivre très exactement tous les stades de l'infection en prélevant du sang à l'aide d'un tube bien effilé à travers le tégument de l'insecte. Voici ce qu'on observe lorsqu'on injecte dans la cavité générale de la chenille la culture du pneumocoque.

Dans les moments qui suivent l'introduction des microbes non virulents, on constate toujours que le sang de la chenille renferme une grande quantité de leucocytes qui englobent ces pneumocoques.

Au bout de une à deux heures tous les phagocytes sont bourrés de pneumocoques. La grande partie des microbes est déjà digérée et transformée en pigment brun-noir (fig. 4).

Trois à cinq heures après l'injection les phénomènes de la phagocytose et de la destruction des microbes est encore plus intense. C'est sur les coupes qu'on observe encore mieux tous les stades de la destruction des microbes dans l'organisme des chenilles.

A côté de la phagocytose on trouve toujours l'agglomération des leucocytes autour des microbes et la formation des cellules géantes et des capsules. Cet accolement des leucocytes, cette formation des agglomérations autour des microbes joue certainement, comme dans la tuberculose, un très grand rôle dans l'immunité des chenilles. La plus grande partie des microbes est digérée et détruite non dans les phagocytes isolés, mais dans ces groupes de phagocytes. Je pus observer quelquefois la formation des agglomérations et la digestion des microbes, même dans les cas où la phagocytose faisait défaut.

Nous avons ici certainement un exemple d'une coopération cellulaire. Quand les cellules isolées, les leucocytes ne peuvent pas attaquer et se défendre contre un parasite dangereux, elles s'amassent, se réunissent ensemble pour être plus fortes et plus résistantes.

DOSE MORTELLE. — Il faut donc, pour que les pneumocoques injectés donnent chez les chenilles une affection mortelle, que les conditions suivantes soient réalisées : 1° la culture tout récemment renforcée par le passage doit être assez jeune (de vingt à quarante heures); 2° la dose des pneumocoques doit être suffisante (1/80-1/160 de centimètre cube de culture en bouillon).

En prélevant le sang une à deux heures après l'injection des pneumocoques virulents, on constate toujours l'absence de phagocytose. Tous les phagocytes sont vides et n'englobent plus les micro-organismes quoiqu'il y ait une grande quantité de pneumocoques tout à côté, souvent même accolés aux parois des leucocytes.

Quelquefois je pus observer une légère phagocytose dans les premiers moments après l'infection, mais peu après la phagocytose cessa (fig. 4).

CHIMIOTAXIE NÉGATIVE.

Les phagocytes manifestent une chimiotaxie négative très nette envers ces microbes.

Ces faits avaient déjà été signalés pour les animaux supérieurs par Bordet et par Tchistovitch.

Cette réaction négative est surtout démonstrative avec la culture III qui est particulièrement pathogène pour les chenilles.

Il est intéressant que les pneumocoques III qui ne se laissent

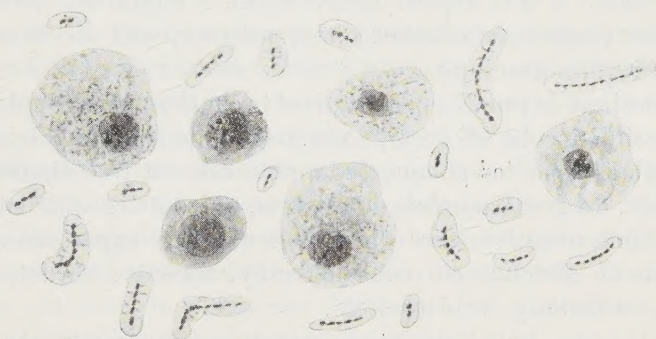


FIGURE 5.

pas englober par les leucocytes sont munis de grosses capsules, qu'ils ne possédaient pas dans la culture injectée (fig. 5).

Ces capsules sont surtout bien visibles après la fixation des frottis du sang par l'alcool méthylique et la coloration par le thionine phéniqué. Sur les préparations ainsi colorées tout le fond est légèrement coloré en bleu et les microbes sont entourés d'une auréole incolore.

La formation des capsules commence ordinairement une à deux heures après l'infection. Au début, tous les pneumocoques isolés sont entourés de petites auréoles peu marquées. Avec le temps ces auréoles deviennent plus larges et plus visibles. Trois à quatre heures après l'infection et surtout dix à quinze heures après, le sang des chenilles infectées est rempli d'une grande quantité de pneumocoques capsulés. La plupart des pneumocoques forment des chaînettes. Il faut supposer

que les microbes, grâce à ces capsules, ne peuvent pas se séparer et donnent des formes en chaînettes.

C'est seulement les pneumocoques de la race III qui donnent ces formes en capsule et en chaînette.

Jamais je n'ai pu trouver de capsules dans les infections avec les races I et II.

Cependant les cultures jeunes, virulentes, des races I et II, bien que ne formant pas de capsules, ne sont pas non plus englobées par les phagocytes. Ce ne sont donc pas les capsules qui sont la cause de cette chimiotaxie négative.

On a constaté maintes fois que les leucocytes d'un animal très sensible à une espèce microbienne n'englobent pas les microbes virulents de cette espèce, même quand ils sont en contact intime avec eux.

Metchnikoff le premier, en étudiant le charbon chez le cobaye, très sensible à cette affection, a remarqué que la bactériidie n'est pas englobée par les phagocytes quand elle est très virulente.

Depuis, un grand nombre de savants, qui ont travaillé sur la chimiotaxie négative, ont confirmé dans leurs expériences les résultats de Metchnikoff (Gabritchersky, Massart, Bordet, Zilberberg et Zeliony, Tchistovitch).

Mais la cause de la chimiotaxie négative reste encore obscure jusqu'à présent.

Bordet a fait une étude très intéressante sur la phagocytose des streptocoques virulents. En les injectant dans la cavité péritonéale d'un cobaye ou d'un lapin, il a remarqué que les leucocytes n'englobent pas les streptocoques les plus virulents développés dans l'organisme. Il a constaté aussi que les streptocoques virulents sont munis d'une auréole qui prend une teinte violet rose.

« Les leucocytes ne sont pas paralysés, au contraire ils présentent des mouvements en tous sens d'une remarquable activité. Ici intervient un facteur important, la chimiotaxie négative, et nous insistons sur ce point. Cette manière de voir implique que les *phagocytes*, guidés par leur sensibilité chimiotactique, peuvent choisir entre les divers microbes avec lesquels ils se trouvent en contact (1) ».

(1) BORDET. Ces *Annales*, 1896.

Zilberberg et Zeliony, qui ont fait une étude spéciale sur la chimiotaxie négative des leucocytes chez les lapins, arrivent aux mêmes résultats (1). Ils disent : « Il faut expliquer l'absence de phagocytose des bactéries virulentes du choléra des poules, non pas par l'empoisonnement des leucocytes, mais par leur sensibilité chimiotactive négative. Les leucocytes du lapin injecté avec des bactéries du choléra des poules conservent jusqu'à la mort de l'animal non seulement la propriété de choisir entre les bactéries virulentes du choléra des poules et des autres microbes non virulents, mais ils sont capables de distinguer dans une culture virulente les bactéries non virulentes. »

J'ai repris ces expériences sur les chenilles qui présentent un matériel exceptionnel pour l'étude de la phagocytose et de la chimiotaxie négative.

La réaction négative des phagocytes de la chenille envers les pneumocoques virulents ainsi qu'envers d'autres microbes pathogènes est très démonstrative. Mais quelle est la cause de cette chimiotaxie négative? Tient-elle aux capsules qui contiennent peut-être quelque substance toxique pour les phagocytes, ou bien le phagocyte lui-même est-il empoisonné et rendu incapable d'englober les microbes?

Une simple expérience montre que le phagocyte n'est pas empoisonné (comme l'avait déjà démontré Bordet pour les leucocytes du cobaye).

Si on injecte aux chenilles infectées par les pneumocoques virulents un peu de carmin ou d'encre de Chine, on constate, au bout d'un temps très court, que les phagocytes qui refusent énergiquement d'englober les pneumocoques se sont emparés du carmin et de l'encre de Chine. D'autre part, ce n'est pas la toxicité de la capsule et sa dimension qui empêchent la phagocytose.

Nous savons très bien que les phagocytes englobent souvent des substances et des microbes très toxiques. Nous savons aussi que les phagocytes sont capables de modifier leurs réactions envers les microbes. Les phagocytes qui refusent au début d'englober les microbes virulents recommencent à les englober

(1) Ces *Annales*, 1901.

et à les digérer après l'immunisation. Et inversement, nous savons des exemples où les phagocytes, dans les infections mortelles, englobent les microbes aux premiers moments et ne les englobent plus ensuite.

C'est pourquoi nous devons constater le fait que la cellule vivante, le phagocyte, peut changer ses réactions et ses sensations envers les différentes substances, peut choisir, peut acquérir de nouvelles qualités, peut agir d'après ses impulsions internes.

Je dois rappeler ici quelques expériences que j'ai faites jadis sur la digestion intracellulaire des infusoires ciliés (*Paramecies*).

Ces infusoires englobent, comme il est bien connu, du carmin et d'autres substances indigestes. Mais si on leur fait ingérer le carmin pendant longtemps, au bout de quelques jours, elles refusent de continuer à le faire. Elles englobent très bien l'encre de Chine et d'autres couleurs, mais plus le carmin.

Ainsi nous pouvons dire que l'infusoire a acquis une nouvelle qualité, la répugnance envers le carmin qu'il a appris à discerner des autres substances indigestes. Il conservera cette nouvelle qualité pendant toute sa vie individuelle. Après la division il recommence peu à peu à manger le carmin (1).

Ainsi nous voyons bien que l'infusoire modifie ses réactions envers le carmin d'après ses impulsions internes, quoique toutes les conditions externes soient restées les mêmes. N'observons-nous pas quelque chose d'analogue dans la vie des phagocytes?

IMMUNITÉ PASSIVE.

Abordons maintenant l'étude des phénomènes qui se passent dans l'organisme des chenilles injectées préventivement de sérum antipneumococque.

Nous avons essayé les sérums qu'on prépare à l'Institut Pasteur, le sérum II et le sérum III qui correspondent aux races des pneumocoques II et III.

(1) *Archiv. Zool. Expér.*, 9, 1911.

EXPÉRIENCES 140. — 5 chenilles reçoivent 1/80 c.c. du sérum n° 2; 20 minutes après, elles sont injectées par une jeune culture virulente du pneumocoque II (1/40 c.c.) :

Dans 24 heures. . .	} Toutes restent vivantes.
— 48 heures. . .	
— 4 jours . . .	

EXPÉRIENCES n° 150 (*contrôle*). — 5 chenilles témoins sont injectées par la même dose de pneumocoques virulents (race II) :

Dans 24 heures, toutes sont mortes.

EXPÉRIENCES n° 151. — 5 chenilles reçoivent 1/80 c.c. du sérum III; 20 minutes après, elles sont injectées avec une jeune culture de pneumocoque III (1/40 c.c.) :

Après 24 heures, toutes les chenilles sont vivantes, mais malades;
— 48 heures, 4 mortes, 1 vivante très malade.

EXPÉRIENCES n° 152. — 5 chenilles (témoins) sont injectées par la même dose de pneumocoques virulents (race III) :

Dans les 24 heures, toutes sont mortes.

Nous avons répété plusieurs fois ces expériences qui nous ont démontré que les chenilles qui étaient préventivement injectées par le sérum II guérissent toujours, tandis que les témoins meurent en vingt-quatre heures.

Quant au sérum III, il n'a pas donné des résultats satisfaisants. Les chenilles traitées par ce sérum n'ont sur les témoins qu'une survie de vingt-quatre heures. Il est très facile de suivre pas à pas l'évolution de la maladie chez les chenilles traitées et chez les témoins.

Or, l'infection chez les chenilles témoins est toujours accompagnée d'une pullulation des microbes dans le sang, microbes qui ne sont pas englobés par les phagocytes.

Au contraire, chez les chenilles injectées de sérum, les microbes disparaissent très vite.

Je n'ai jamais pu constater ni agglutination, ni bactériolyse. Une heure après l'infection la quantité de microbes qu'on trouve dans le sang est très restreinte. Il est même parfois difficile de les retrouver sur les préparations. Dans ces conditions le virus est très rapidement englobé par les phagocytes. Mais la plus grande partie est fixée et englobée par les leucocytes agglomérés qui les digèrent très vite.

Chez les témoins qui ont reçu les mêmes doses et qui

n'étaient pas soumis à l'influence protectrice du sérum, on constate souvent aussi la disparition temporaire des microbes, mais deux heures et demie à trois heures après l'infection ils réapparaissent de nouveau en grande quantité et produisent une septicémie mortelle.

*
* * *

L'immunité acquise n'a presque pas été étudiée jusqu'à présent chez les insectes. Metchnikoff, avec les larves d'*Oryctes nasicornis*, Mesnil et Kowalewsky, avec les *Scolopendres*, n'ont pu réussir à immuniser ces animaux contre le charbon. Récemment Paillot a montré que les chenilles d'*Agrotis* (vers gris) pouvaient être facilement immunisées contre le *Bacillus melo-lonthæ* non liquefaciens qui est très virulent pour elles. D'après les données de Paillot, cette immunité acquise est due exclusivement aux bactériolysines qui se développent dans le sang des chenilles immunisées. Les bacilles se transforment en granules, comme dans le phénomène de Pfeiffer. La phagocytose ne joue aucun rôle quoique les bacilles soient toujours phagocytés, mais ils ne sont pas digérés.

J'ai fait des expériences analogues avec des chenilles de *Galleria mellonella*. L'immunisation est très facile. Il suffit d'injecter à la chenille une petite dose de pneumocoques non virulents ou des pneumocoques chauffés à 58° pour donner, vingt-quatre heures après la vaccination, une immunité très nette envers les doses sûrement mortelles.

En étudiant le sang sur les frottis et les coupes on peut constater que chez les chenilles témoins les microbes pullulent rapidement et donnent une maladie mortelle. Au contraire chez les chenilles immunisées les microbes disparaissent très vite. La plus grande partie des microbes est fixée et englobée par les agglomérations de leucocytes. Cinq à dix heures après l'infection on trouve dans des phagocytes isolés et surtout dans les agglomérations de phagocytes une grande quantité de microbes digérés et transformés en pigment brun-noir.

Dans tous ces cas d'immunité acquise, je n'ai jamais pu constater d'anticorps dans le sang.

Ainsi nous pouvons affirmer que dans tous ces cas d'immu-

nité acquise, étudiés par nous, l'essentiel est le changement dans l'activité et la sensibilité des phagocytes. On peut dire que les cellules, s'adaptant à des conditions nouvelles, changent leurs réactions. Les réactions négatives sont remplacées par des réactions positives. Et dans ces changements de la sensibilité et des réactions de la cellule se trouve la cause principale de l'immunité acquise.

(Laboratoire du professeur MESNIL à l'Institut Pasteur.)

RÉACTION DE FIXATION (ANTIGÈNE DE BESREDKA) ET TUBERCULOSE

par J. RIEUX et M^{lle} BASS.

(Travail fait au Val-de-Grâce et à l'Institut Pasteur.)

L'application de la réaction de fixation ou de la déviation du complément dans le diagnostic clinique de la tuberculose est à l'ordre du jour. La Société pour l'étude de la tuberculose vient d'y consacrer sa séance du 14 mai 1921. L'avenir dira quelle est sa valeur pratique. Il nous a paru intéressant de donner ici les résultats fournis sur la question par nos recherches personnelles. Ces recherches ont été faites sur un total actuel de 425 malades, passés dans notre service du Val-de-Grâce et presque tous âgés d'une vingtaine d'années. Elles ont été pratiquées avec l'antigène mis obligeamment à notre disposition par M. Besredka, dans son laboratoire de l'Institut Pasteur, et sous son contrôle. Le total de ces travaux est assez élevé pour qu'on soit autorisé à formuler quelques conclusions.

. * .

Parmi les mémoires parus sur la question (1) nous nous bornerons à signaler l'un des plus importants, celui de Kuss et Rubinstein (1914), qui ont utilisé le même antigène de Besredka. Les recherches de ces auteurs portent sur un nombre assez élevé de cas de tuberculose *avérée*, groupés en cinq classes, selon leur forme et leur allure clinique; seul le groupe I comprenait 7 malades « dont l'histoire clinique avait inspiré des craintes très légitimes sur l'existence d'une tuberculose au début », craintes qui ne furent pas maintenues, et chez lesquels la réaction fut d'ailleurs chaque fois négative.

(1) Voir l'index bibliographique à la fin du mémoire.

Or il est permis de dire que, pour des tuberculeux avérés, la réaction de fixation ne constitue qu'un argument de plus en faveur de la certitude de leur tuberculose, suffisamment établie, par ailleurs, c'est-à-dire par les commémoratifs, l'examen clinique et surtout la bacilloscopie. L'utilité de la réaction intervient seulement dans le cas où le tableau clinique d'une tuberculose pulmonaire est contredit par l'absence de bacilles de Koch dans l'expectoration.

Envisageant à notre tour le problème, il nous a paru intéressant de soumettre à la même étude sérologique des malades *ne présentant aucune certitude de tuberculose, active ou éteinte, mais chez lesquels la tuberculose peut être tout au moins présumée, sous sa forme latente, sur la foi des antécédents, de l'examen clinique et radiographique, la bacilloscopie demeurant négative dans tous les cas.* Clientèle habituelle aux hôpitaux militaires où quotidiennement se pose la difficile question : « Sommes-nous en présence d'une tuberculose latente ou commençante, ou de toute autre chose ? »

* *

Nos recherches ont porté, avons-nous dit, sur 425 malades que nous divisons, au nom de la clinique, en 6 groupes :

1° Tuberculose pulmonaire confirmée, de forme clinique diverse avec bacilloscopie positive : 78 cas.

2° Tuberculose péritonéale : 6 cas.

3° Pleurésie séro-fibrineuse, classiquement de nature tuberculeuse, en pleine évolution : 28 cas.

4° Adénopathie trachéo-bronchique représentant le symptôme clinique prédominant : 44 cas.

5° Malades cliniquement présumés tuberculeux, par conséquent suspects de tuberculose latente : 80 cas.

6° Malades n'entrant dans aucune des catégories précédentes, non présumés tuberculeux ou atteints d'une affection n'ayant rien à voir avec la tuberculose.

Malgré le caractère un peu artificiel de cette division, il est facile de comprendre que le premier groupe, celui des tuberculeux avérés et le dernier groupe, celui des non-tuberculeux, constituaient, le premier dans le sens positif, le dernier

dans le sens négatif, un véritable contrôle de la valeur de la réaction, considérée au point de vue un peu spécial où nous nous sommes placés.

La technique suivie a été aussi rigoureusement que possible identique dans tous les cas. Sang recueilli aseptiquement dans la veine du pli du coude le matin entre huit et dix heures; réaction faite le lendemain de la prise de sang. En raison du caractère prépondérant, aujourd'hui bien connu des anticorps syphilitiques sur les anticorps tuberculeux, la réaction de Wassermann a été faite (par les soins de M. Rubinstein) sur le sang de malades chez lesquels la syphilis pouvait être soupçonnée ou chez lesquels la réaction à l'antigène Besredka était, par son caractère positif, en contradiction avec la clinique. Le procédé au sérum chauffé avec addition de doses progressives d'alexine de cobaye a été appliqué à tous les cas et, en raison de son caractère plus rigoureux, a servi de base à l'appréciation du résultat. La méthode directe, au sérum non chauffé, a été utilisée concurremment dans la plupart des recherches et s'est montrée presque toujours en concordance avec la méthode indirecte. Seuls ont été retenus comme tels les résultats nettement positifs. Ajoutons enfin que, chez un grand nombre de malades des trois derniers groupes, la cuti-réaction à la tuberculine a été pratiquée, la prise de sang une fois faite; sur un total de 90 cuti-réactions, nous avons relevé 78 positives, soit 85,5 p. 100 de cas, chiffre habituel au milieu.

Ajoutons enfin que les examens cliniques et les travaux sérologiques ont été faits en complète indépendance les uns des autres, technique nécessaire quand on entreprend de semblables recherches.

*
* *

1^o TUBERCULOSÉ PULMONAIRE CONFIRMÉE. — Sur un total de 78 malades, atteints de toutes formes cliniques de la maladie, *une seule fois la réaction a été négative* : homme de trente-deux ans, à la fois syphilitique et tuberculeux, Wassermann et Hecht positifs, tuberculose caséuse rapidement mortelle. Le pourcentage de réactions de Besredka positives n'est donc pas

loin de 100, ce qui est conforme aux recherches antérieures, de Kuss et Rubinstein en particulier.

Dans deux cas, la bacilloscopie positive a précédé la réaction positive, qui est apparue environ deux mois après le début de la maladie. Dans trois cas, au contraire, la réaction positive a précédé la bacilloscopie positive et a, par conséquent, « annoncé » la tuberculisation virtuelle des poumons.

2° TUBERCULOSE PÉRITONÉALE. — Sur six observations, la réaction de Besredka a été positive quatre fois, soit 66 p. 100 des cas. Des deux cas négatifs, l'un a succombé à de la méningite tuberculeuse, l'autre a quitté le service dans un état de cachexie profonde. Il est bien établi aujourd'hui que la tuberculose rapide et cachectisante entraîne souvent une réaction négative.

3° PLEURÉSIE SÉRO-FIBRINEUSE. — Nos recherches ont porté sur vingt-huit observations. La réaction de fixation a été, globalement, positive dans seize cas, soit 57 p. 100 des cas. Signalons que deux malades, entrés dans notre service avec une pleurésie séro-fibrineuse et réaction de fixation positive, ont présenté ultérieurement de l'infiltration du sommet correspondant. Ici encore la réaction de fixation a « annoncé » la tuberculose clinique. Il est remarquable, d'ailleurs, que les pleurétiques, à réaction d'emblée positive, possèdent des antécédents héréditaires ou personnels plus ou moins chargés. Signalons enfin que sur cinq malades à réaction négative et sur lesquels ont été pratiquées des réactions en série, trois ont montré une réaction de fixation positive au bout de deux mois à deux mois et demi.

4° ADÉNOPATHIE TRACHÉO-BRONCHIQUE. — 44 malades présentant comme symptôme clinique ou radiologique prédominant de l'adénopathie trachéo-bronchique ou médiastinale ont été examinés. 20 fois la réaction de Besredka a été positive : soit 44 p. 100 des cas. Ici encore ce sont les malades à antécédents tuberculeux, héréditaires ou personnels, ou chez lesquels on note quelques signes pulmonaires en plus de leur adénopathie, qui montrent une réaction positive.



Si nous groupons tous ces faits de tuberculose clinique, nous arrivons à un total de 136 observations, dont 117 réactions de Besredka positives, soit exactement 75 p. 100. Ce chiffre est assez éloquent par lui-même pour témoigner de la valeur de la réaction de fixation; l'argument est encore meilleur si l'on n'envisage que la tuberculose pulmonaire confirmée, avec 100 p. 100 de réactions positives. On est dès lors autorisé à conclure à la *spécificité* de la réaction de fixation, spécificité affirmée, d'ailleurs, dès 1914, par Küss et Rubinstein. Nous y souscrivons à notre tour, mais avec quelques réserves.

Les sérums normaux donnent une réaction négative. De même celui de malades atteints de rougeole (11 cas), de scarlatine (5 cas), de grippe (7 cas sur 8). Seuls les sérums de syphilitiques, donnant un Wassermann positif, peuvent fournir une réaction positive avec l'antigène de Besredka. Pourtant tous les sérums positifs au point de vue Wassermann ne donnent pas toujours une séro-réaction de tuberculose positive. Au sérum des syphilitiques, nous ajouterons celui des paludéens. Nos recherches ont porté sur 17 cas de paludisme en activité avec hématozoaire, le plus souvent *P. vivax*, dans le sang. Pour tous, les trois réactions (Besredka, Wassermann, Hecht) ont été pratiquées. Dans 6 cas, les trois réactions sont restées négatives. Dans 3 cas, le Besredka a été négatif, le Wassermann et le Hecht étant positifs : on pouvait conclure à la syphilis. Dans 3 cas, le Besredka était positif, le Wassermann et le Hecht étant négatifs; on pouvait conclure à la tuberculose. Enfin, dans 5 cas, les résultats étaient discordants : Besredka et Wassermann positifs, le sérum non chauffé étant dépourvu de propriétés hémolytiques (3 cas); Besredka positif, Hecht positif, Wassermann négatif (1 cas); Besredka et Wassermann négatifs, Hecht positif (1 cas). Ces résultats ont paru sans relation avec la thérapeutique quinique; ils témoignent à notre avis de propriétés fixatrices un peu spéciales à certains sérums de paludéens et liées à la déglobulisation sanguine.

La conclusion générale que nous en avons tirée est que,

tout en étant spécifique, la réaction de fixation à la tuberculose est limitée. Certaines affections, de l'ordre de celles qui modifient profondément les qualités physico-chimiques du plasma sanguin, qui y introduisent des corps colloïdaux nouveaux, des lécithines par exemple, peuvent entraîner une réaction positive, sans que la tuberculose soit en jeu.

Ainsi donc : *limitée, néanmoins spécifique*, telle nous apparaît la réaction de fixation avec l'antigène de Besredka. Dans 75 p. 100 de tuberculose clinique de toutes variétés médicales, la réaction est positive, et il est remarquable que ce pourcentage est d'autant plus près de l'absolu que notre certitude de la nature tuberculeuse de la maladie est elle-même plus grande (tuberculose pulmonaire avec bacilloscopie positive). N'est-on pas dès lors, *a priori*, autorisé à s'appuyer sur la même réaction pour attribuer la nature tuberculeuse à tous ces états morbides, qui n'entrent pas dans la tuberculose clinique vraie, mais relèvent de la tuberculose latente, seulement présumée, ou encore de la prétuberculose qui est de la tuberculose commençante?

..

C'est à cette question que se rattache le reste de nos recherches. Mis à part les 41 cas de maladies infectieuses (rougeole, scarlatine, grippe, paludisme) déjà cités, nos examens ont porté sur 228 malades. La réaction de fixation a été positive 68 fois, soit 30 p. 100, et négative 160 fois.

Ces cas sont divisés dans les deux groupements suivants :

1° Malades présumés tuberculeux au nom de la clinique, la bacilloscopie demeurant négative dans tous les cas : 80 cas ;
2° malades n'entrant pas dans le groupe précédent : 148 cas.

1° *Malades présumés tuberculeux*. — Sur les 80 malades de ce groupe, 51 ont montré une réaction de fixation positive, soit 63,75 p. 100.

Tous ces malades sont liés par les mêmes traits cliniques, qui autorisent le clinicien à soupçonner la tuberculose, au moins latente : antécédents héréditaires avec cohabitation prolongée ; affections pulmonaires diverses de l'enfance ou de l'adolescence, les bronchites fréquentes en particulier ; hémor-

plysie que nous relevons, généralement récente, dans environ la moitié de nos observations; pleurésie séreuse plus ou moins ancienne, ayant laissé la séquelle fréquente des adhérences pleuro-diaphragmatiques décelables à la radioscopie; fièvre légère prolongée avec amaigrissement; adénites chroniques, etc., tous faits pathologiques qu'on trouve dans la majorité des cas de tuberculose réactivée vers la vingtième année.

Si le sérum de tous ces malades ne répond pas positivement à la réaction de Besredka, c'est, à notre avis, pour les raisons suivantes : parce que quelques-uns sont guéris de leur tuberculose ancienne; parce que d'autres ont des séquelles pleuropulmonaires qui relèvent de pneumococcies, de streptococcies, de la syphilis, de la grippe; parce que d'autres, enfin, et particulièrement ceux qui dénoncent une tuberculose initiale, sous la forme d'une hémoptysie récente, n'ont pas eu le temps de répandre dans leur sérum des anticorps tuberculeux.

2° *Malades non présumés tuberculeux.* — Ce groupe important comprend des malades de toutes catégories, chez lesquels la notion clinique de la tuberculose n'est pas retenue. Nos recherches ont porté sur 148 malades : 17 fois la réaction a été positive, soit 11,5 p. 100; 131 fois elle fut négative, soit 87,5 p. 100.

Les cas à réaction positive contiennent des faits contradictoires entre la clinique et la réaction de Besredka et qui restent inexpliqués. Mais ils comprennent aussi des faits instructifs et qui confirment la spécificité de la réaction : ainsi deux cas de rhumatisme à début fébrile, puis à allure chronique répondant au type tuberculeux Poncet-Leriche; deux cas de rhinite hypertrophique; un cas d'érythème noueux, dont la relation étiologique avec la tuberculose est admise par certains auteurs, M. Sergent en particulier.

Quant aux 87,5 p. 100 de réactions négatives de ce groupe important, ils appartiennent aux affections les plus diverses. Les unes intéressent l'appareil respiratoire (bronchite aiguë simple ou avec emphysème pulmonaire, pneumococcies, insuffisance respiratoire, etc.); les autres touchent à tous les autres appareils et leur énumération importe peu dans la question. Mais ce fort pourcentage de réactions négatives, certainement inférieur à la réalité, plaide tout autant, par son

caractère négatif, en faveur de la spécificité de la réaction de Besredka, que le pourcentage des réactions positives chez les tuberculeux avérés.

*
* *

De tous ces faits résulte un premier enseignement : c'est l'importance de la réaction de fixation avec l'antigène tuberculeux. Pas plus que pour la réaction de Bordet-Wassermann, nous ne connaissons son processus physico-chimique. Nous dirons seulement que, puisque la réaction de fixation avec le sérum des tuberculeux relève du même processus humoral que la réaction de Bordet-Wassermann, et puisqu'un clinicien ne peut pas ne pas s'incliner devant un Wassermann positif, quand il a des raisons cliniques de le rechercher, la même déduction s'impose avec la séro-réaction de la tuberculose. On peut même dire que la spécificité de la séro-réaction de la tuberculose est plus grande que celle de la syphilis, puisque l'antigène de Besredka est à base de bacilles tuberculeux. Ajoutons enfin que la séro-réaction de la tuberculose se sépare nettement de la cuti-réaction, de l'intradermo-réaction et aussi de l'ophtalmo-réaction. L'étude que nous en avons faite après d'autres aboutit comme elles à la même affirmation.

Quelle signification peut-on attribuer à la séro-réaction de la tuberculose? D'un commun accord, tous les auteurs lui refusent la signification d'une réaction d'immunité, puisqu'on la trouve positive chez presque tous les tuberculeux en activité. On ne saurait dire davantage qu'elle soit une réaction indiquant soit une menace de tuberculisation, soit un réveil d'une tuberculose ancienne, puisqu'on ne la trouve pas dans tous les cas de tuberculose pulmonaire ou pleurale *au début*, non plus que dans tous les cas d'adénopathie trachéo-bronchique. Est-ce une réaction témoignant de la défense de l'organisme contre la tuberculose, défense qui serait aussi intense dans la tuberculose avérée? Jusqu'à mieux informé, et plus généralement, la réaction de fixation positive avec l'antigène de Besredka nous paraît répondre à une infection tuberculeuse existant depuis quelque temps, ou encore, pour reprendre la conclusion de Kuss et Rubinstein : « Elle est un argument

de grande valeur en faveur de l'existence d'une lésion tuberculeuse ayant un certain degré d'activité. »

Mais, telle qu'elle s'offre à nos yeux sur la foi de nos recherches personnelles, elle n'est pas seulement la réaction *témoin* d'une tuberculose *avérée*. D'une manière à la fois plus ample, plus précise, elle nous apparaît comme une réaction *révélatrice* d'une tuberculose *latente*. Autrement dit, pour employer les termes du professeur Calmette, elle ne serait pas seulement la réaction de la tuberculose-maladie, mais, aussi et plus généralement, la réaction de la tuberculose-infection.

CONCLUSIONS

De l'ensemble des faits qui précèdent découlent les conclusions suivantes :

1° La réaction de fixation avec l'antigène de Besredka est *spécifique*. Cette spécificité est d'ailleurs reconnue par les auteurs qui ont eu recours à la réaction. Elle n'est mise en défaut qu'avec certains sérums pathologiques, celui des syphilitiques, celui aussi de paludéens (avec hématozoaires dans le sang). Elle ne se manifeste pas dans le cas d'infection tuberculeuse trop récente, non plus que dans certaines formes de tuberculose rapide et cachectisante. Ces restrictions admises, la réaction positive exprime d'une manière générale la tuberculose, la réaction négative la non-tuberculose.

2° Par comparaison avec les autres méthodes de diagnostic scientifique de la tuberculose, d'une part, la réaction à la tuberculine (cuti-, intradermo- et ophtalmo-réactions) et de l'autre, la recherche du bacille de Koch (recherche directe, inoculations, etc.), la réaction de fixation se présente comme intermédiaire : moins étendue, moins banale et plus spécifique que la première ; plus sensible, plus précoce et aussi spécifique que la seconde. Sa portée comme sa valeur dans l'étude de l'évolution tuberculeuse chez l'homme apparaissent dès lors comme plus grandes.

3° Son application clinique et par conséquent sa *valeur diagnostique* découlent de sa spécificité même. Positive, elle se présente comme une base scientifique sur laquelle pourront

s'appuyer les notions cliniques toujours si incertaines de la tuberculose latente ou de la prétuberculose; elle impose à l'esprit du clinicien un examen plus approfondi du malade et de parfaire son diagnostic; elle démontre la nature tuberculeuse de certaines affections qui n'ont pas encore pris place officielle dans le chapitre de la tuberculose. Négative, elle autorise, sous les réserves admises, à écarter la tuberculose.

4° Spécificité et valeur diagnostique font tout au moins entrevoir la portée prophylactique de la réaction de fixation dans la tuberculose. Sur cette formule scientifique, dépister la tuberculose latente avant qu'elle devienne la tuberculose cliniquement confirmée, mettre tout en œuvre pour empêcher la transformation de la première en la seconde, d'une curabilité toujours si difficile, n'est-ce pas le programme vraiment rationnel et logique d'une prophylaxie antituberculeuse, tant individuelle que sociale?

BIBLIOGRAPHIE

- WIDAL et LESOURD. *C. R. Soc. méd. Hôp.*, Paris, 5 juillet 1901, p. 786.
 A. CALMETTE, MASSOL et BRETON. *C. R. Soc. de Biol.*, 1908.
 A. CALMETTE. *C. R. Soc. de Biol.*, 1911, **71**, p. 342.
 R. LETULLE, Réactions humorales dans la tuberculose. *Thèse de Paris*, 1912.
 ARMAND-DELILLE, RIST et VAUCHER. *C. R. Soc. de Biol.*, 19 avril 1913.
 BESREDKA. *Ces Annales*, novembre 1913.
 BESREDKA et MANOUKHINE. *C. R. Soc. de Biol.*, 1914, **76**, p. 180.
 BESREDKA et JUPILLE. *C. R. Soc. de Biol.*, 1914, **76**, p. 197.
 DEBAINS et JUPILLE. *C. R. Soc. de Biol.*, 1914, **76**, p. 199.
 INMAN. *C. R. Soc. de Biol.*, 1914, **76**, p. 251.
 BRONFENBRENNER. *Zeit. f. Immun.*, 1915, **25**, p. 231.
 BESREDKA. *Paris médical*, 1914-1915, p. 219.
 KÜSS et RUBINSTEIN. *Bull. et Mém. Soc. méd. Hôp. Paris*, 19 juin 1914, p. 153.
 BOEZ et DUHOT. *C. R. Soc. de Biol.*, mai 1919, p. 559.
 BRETON et DUHOT. *Bull. Institut Pasteur*, n° 23, 1919, p. 753.
 A. CALMETTE, *L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux*, Paris, 1921, p. 478 et suiv.
 RUBINSTEIN, *Traité pratique de sérologie et de sérodiagnostic*, Paris, 1921, p. 297 et suiv.
 A. BASS, Sérodiagnostic de la tuberculose au moyen de l'antigène de Besredka. *C. R. Soc. de Biol.*, 16 octobre 1920, **143**, p. 1261.
 CH. HRUSKA et W. PFENNINGER. *Ces Annales*, janvier 1921, p. 96.

RÉACTION DE FIXATION A L'ANTIGÈNE DE BESREDKA DANS LA TUBERCULOSE EXTERNE

par B. FRIED et M. MOSER.

(Travail fait à l'Institut Pasteur et à l'Hôpital maritime de Berck-sur-Mer.)

Les premières recherches expérimentales sur la réaction de fixation au moyen de l'antigène tuberculeux à l'œuf (1) effectuées par Besredka ont établi (2) que, chez les animaux de laboratoire, la réaction apparaît d'une façon très précoce : chez les cobayes, dès le quatrième jour, chez les lapins vers le quinzième ou vingtième jour. La réaction précède donc de longtemps les altérations viscérales visibles à l'examen microscopique.

Au cours de ces recherches, Besredka a cru observer que la réaction de fixation marchait jusqu'à un certain degré de pair avec la résistance de l'animal. Ainsi, chez le cobaye tuberculeux, la réaction de fixation de positive devient négative dans les jours qui précèdent la mort. Chez le lapin inoculé avec les bacilles humains, auxquels généralement il résiste fort bien, la réaction est durable et intense. En d'autres termes, la réaction est d'autant plus accusée que l'animal se défend mieux contre l'infection.

De nombreuses recherches effectuées depuis avec le même antigène ont démontré que les constatations faites par Besredka sur les animaux de laboratoire se vérifient chez l'homme et chez les bovidés.

Ainsi Bronfenbrenner (3), de Harvard medical School à Boston, L. Raychman, de London King's College, Inman (4), de Brompton Hospital de Londres, qui avaient examiné chacun

(1) Ces *Annales*, 1913, p. 1009.

(2) *C. R. Soc. de Biol.*, 26, p. 180 et 76, p. 197.

(3) *Arch. int. méd.*, 1914, n° 6, p. 789 et *Zeitschr. f. Immun.*, 1914, 23.

(4) *C. R. Soc. de Biol.*, 76, p. 251 et *The Lancet*, 23 mai 1914.

des centaines de sérums de tuberculeux et de non-tuberculeux, conclurent de leurs recherches que, chez les tuberculeux, la réaction de fixation est précoce et spécifique.

D'après ces auteurs, la réaction négative, chez les tuberculeux, indique soit l'absence d'une lésion tuberculeuse, soit l'arrêt d'une lésion active; une réaction positive indique, d'après eux, une lésion tuberculeuse en activité. Debains et Jupille (1) [570 cas] sont arrivés aux mêmes conclusions.

Küss et Rubinstein (2) qui se sont servis, comme les auteurs précédents, de l'antigène à l'œuf, conclurent, en se basant sur une étude approfondie de 100 malades, que la réaction de Besredka « est surtout utile dans les cas où on est hésitant pour le diagnostic d'une tuberculose pulmonaire; une séro-réaction négative ne permet pas de rejeter le diagnostic de la tuberculose; mais une séroréaction positive est un argument de grande valeur en faveur de l'existence d'une lésion tuberculeuse ayant une certaine activité ».

Les travaux récents de Rieux et Bass (3) sur un nombre considérable de tuberculeux et non-tuberculeux; ceux d'Ichok sur les vieillards, confirment les observations antérieures.

Les recherches de Fried (4) portant sur plus de 200 malades, contrôlés par l'examen bactériologique et radioscopique, amenèrent cet auteur à conclure que dans la réaction de fixation au moyen de l'antigène de Besredka on possède une des méthodes les plus sûres de diagnostic de la tuberculose; que cette réaction permet de dépister celle-ci à la période initiale, pendant que la clinique est encore muette.

Rappelons, enfin, les recherches parues récemment de Hruska et Pfenninger (5) d'où il résulte que la proportion des résultats positifs chez les bovidés tuberculeux est de 84 à 95 p. 100, suivant la localisation des lésions. D'après ces auteurs, la réaction de fixation, au moyen de l'antigène de Besredka, est appelée à rendre un service signalé dans la lutte contre la tuberculose bovine.

(1) *Soc. de Biol.*, 21, p. 199.

(2) *Bull. de la Soc. méd. des Hôp.*, 12 juin 1914.

(3) *Rev. de la tuberculose*, n° 1, 1921.

(4) *Rev. de la tuberculose*, n° 6, 1920.

(5) *Ces Annales*, n° 1, 1921.

Si, dans la tuberculose viscérale, les recherches faites de différents côtés ne laissent plus subsister aujourd'hui aucun doute sur la valeur de la réaction, dans la tuberculose externe, au contraire, cette réaction ne paraît pas avoir acquis la place qu'elle mérite cependant, comme nous allons le montrer.

Il est, en effet, admis que, dans la tuberculose externe, le sang ne subit point les mêmes modifications que dans la tuberculose viscérale. Ainsi, dans son livre qui fait autorité en la matière, Calmette (1) s'exprime ainsi à ce sujet : « Les sérums des sujets atteints de tuberculose chirurgicale ne renferment aucune trace d'anticorps, lorsque ces malades ne présentent aucun stigmate de tuberculose ganglionnaire ou pulmonaire. »

TECHNIQUE

Dans tous les cas examinés, la réaction a été faite concurremment par la méthode au sérum chauffé, ainsi que par le procédé au sérum non chauffé, dit rapide (système hémolytique : lapin anti-mouton et système hémolytique : lapin anti-humain). Le sang des malades a été prélevé par ponction veineuse, le plus souvent, au pli du coude, quelquefois à la veine jugulaire. L'examen du sérum était toujours pratiqué dans les vingt-quatre heures qui suivaient la prise du sang.

Comme antigène, nous nous sommes servis de l'antigène à l'œuf de Besredka.

Les réactifs nécessaires à la réaction : sérum, antigène, eau physiologique, etc., étaient distribués en tubes à hémolyse, à l'aide de pipettes compte-gouttes de calibre uniforme (15 gouttes par centimètre cube). La réaction finale portait sur 10 gouttes. Ce dispositif économise beaucoup de temps et ne nuit en rien à la précision de la réaction.

Dans la méthode au sérum chauffé, nous avons adopté le procédé préconisé par Calmette et Massol : doses constantes d'antigène et de sérum à examiner, doses croissantes d'alexine.

Dans une épreuve préalable, l'alexine était titrée en présence d'antigène et de sérum normal; la dose minima d'alexine ayant déterminé l'hémolyse (ordinairement 2 gouttes à 1/5 ou 1 goutte à 1:8) était employée comme dose initiale dans la réaction.

	GOUTTES							
Sérum chauffé	2	2	2	2	2	2	2	2
Antigène. . . .	3	3	3	3	0	0	0	0
Alexine	1 à 1:8	1 à 1:6	1 à 1:5	1 à 1:4	1 à 1:8	1 à 1:6	1 à 1:5	1 à 1:4
Eau physiol. . .	2	2	2	2	5	5	5	5

Une heure à 37°.

(1) L'infection bacillaire et la tuberculose, Masson, 1920, p. 507.

	GOUTTES							
Hématies de mouton à 1:20	1	1	1	1	1	1	1	1
Sérum hémolytique.	1	1	1	1	1	1	1	1

La lecture des résultats est faite une demi-heure après la sortie des tubes de l'étuve.

Dans le procédé au sérum non chauffé, nous employons la technique qui est couramment employée dans le laboratoire de M. Besredka.

Rappelons que dans cette méthode on utilise l'alexine du sérum examiné et son hémolyse vis-à-vis des globules de mouton. Pour être concluante, la réaction doit être précédée d'une étude du pouvoir hémolytique du sérum vis-à-vis des hématies de mouton, c'est-à-dire du dosage de l'indice hémolytique du sérum à examiner.

Exemple de détermination de l'indice hémolytique :

	GOUTTES				
Sérum frais	1	1	1	1	1
Hématies de mouton à 1:20	1	2	3	4	5
Eau physiol. pour compléter à 10 gouttes.	8	7	6	5	4

La lecture, faite après une demi-heure à 37°, donne l'indice hémolytique et la dose de globules de mouton à employer dans la réaction.

Supposons, par exemple, que le sérum étudié produise en une demi-heure une hémolyse totale dans les trois premiers tubes, une hémolyse partielle dans le quatrième, une hémolyse nulle dans le cinquième; nous dirons que son index hémolytique est égal à 3; le nombre des gouttes employées dans la réaction sera donc 3 gouttes.

Pour un tel sérum, la réaction sera disposée comme suit :

	GOUTTES		
Sérum frais	1	1	1
Antigène.	1	2	3
Eau physiologique (pour un volume total de 10 gr.).	5	4	3
Une heure à 37°.			
Globules de mouton à 1:20.	3	3	3

Après une demi-heure d'étuve, on lit les résultats.

Cette méthode a été appliquée pour la première fois par M. Pellier (1) dans le séro-diagnostic de la tuberculose (antigène de Besredka). Fried (2), en collaboration avec Goldenberg, a examiné 153 sérums par les deux procédés; les deux méthodes ont donné des résultats concordants.

Dans le procédé au sérum non chauffé (système hémolytique: lapin-globules humains), nous nous sommes inspirés de très près de la technique préconisée par Ronchèse pour le séro-diagnostic de la syphilis (3); cette méthode

(1) *Thèse de Montpellier*, 1920.

(2) *C. R. de Biol.*, 6 novembre 1920.

(3) La réaction de Bordet-Wassermann, 1919 (Masson et Cie).

utilise l'alexine du sérum humain et fait intervenir dans le complexe hémolytique la sensibilisatrice antihumaine.

Les difficultés signalées par les différents auteurs pour l'obtention d'un bon sérum de lapin anti-humain proviennent le plus souvent du lavage incomplet des hématies.

Il est, en effet, facile d'obtenir un sérum hémolytique anti-humain d'un titre variant de 1/40 à 1/60, c'est-à-dire, un sérum dont une goutte diluée au 1/40-1/60 hémolyse, en une demi-heure à 37°, une goutte de globules humains (1/8), en présence d'une goutte de sérum de cobaye (au 1/3), dans un volume total de 10 gouttes.

Quelle que soit la voie par laquelle on injecte les globules (veine ou péritoine), ceux-ci doivent être soigneusement lavés et débarrassés des moindres traces de sérum.

Ces injections sont pratiquées à quatre jours d'intervalle. Huit jours après la dernière injection, l'animal est saigné et le sérum est titré.

Par suite de la variabilité du taux en alexine propre à chaque sérum, il est nécessaire de déterminer exactement, dans un essai préliminaire, la quantité de sensibilisatrice à employer pour chaque sérum à examiner.

Supposons qu'une goutte de sérum hémolytique antihumain (1/30) hémolyse une goutte de globules humains (à 1/8) en présence de deux gouttes d'un mélange de sérums humains (pour avoir un sérum de titre moyen, on mélange plusieurs sérums humains). Dans l'essai préliminaire, l'expérience est disposée comme suit :

	GOUTTES				
Sérum frais.	1	1	1	1	1
Sensibilisatrice.	2	2	2	2	2
Globules humains à 1:8.	1 à 1:34	1 à 1:32	1 à 1:30	1 à 1:28	1 à 1:26
Eau physiologique. . .	6	6	6	6	6

30 minutes à 37°.

Le tube qui, avec le minimum de sensibilisatrice, détermine l'hémolyse en une demi-heure indique la dilution de sensibilisatrice à employer dans la réaction.

Le dispositif suivant permet de faire les deux épreuves en même temps sans que ni le titrage, ni la réaction en souffrent.

Dans les trois premiers tubes destinés à la séro-réaction de la tuberculose, on verse deux gouttes de sérum, des doses variables (de 1 à 3 gouttes) d'antigène, de l'eau physiologique, de façon à ramener le volume total à 10 gouttes.

Le quatrième tube (témoin) contient 2 gouttes de sérum et 6 gouttes d'eau physiologique. Dans la même rangée, on dispose cinq autres tubes destinés au titrage préliminaire : chacun des tubes reçoit 2 gouttes de sérum humain et 6 gouttes d'eau physiologique.

Après un séjour d'une demi-heure à 37°, on ajoute aux cinq tubes destinés au titrage préliminaire de la sensibilisatrice et des globules humains (à 1/8). La sensibilisatrice est ajoutée à raison d'une goutte des dilutions allant de 1/34 à 1/26 (dans l'exemple choisi).

Après un nouveau séjour d'une demi-heure à l'étuve, on voit à quel taux la sensibilisatrice doit être employée dans la réaction.

Nous pratiquons par le même procédé et simultanément la séroréaction de la syphilis pour chaque sérum.

A cet effet nous versons, dans trois tubes, deux gouttes de sérum et des doses progressivement croissantes d'antigène syphilitique (1, 2, 3 gouttes d'antigène de Noguchi). Cette recherche simultanée (tuberculose et syphilis) est indispensable, une certaine proportion de sérums syphilitiques fixant l'alexine en présence de l'antigène tuberculeux.

DOCUMENTS CLINIQUES

Nous avons examiné, par les trois procédés qui viennent d'être décrits, 869 malades de l'hôpital maritime de Berck-sur-Mer. Leur âge variait de 2 à 14 ans. Leur état général ne laissait rien à désirer dans la plupart des cas : aucune lésion viscérale n'a pu être constatée chez eux, sauf de bien rares exceptions.

Ces malades se répartissent comme suit :

Maux de Pott	196 cas.
Coxalgies	143 —
Tumeurs blanches du genou.	116 —
Lésions ostéo-articulaires (coude, poignet, épaules, cou-de-pied, etc)	158 —
Tuberculose externe multiple (plus de deux foyers).	56 —
Adénites.	44 —

En outre :

Syphilis osseuses et ganglionnaires	24 —
Affections ostéo-articulaires non tuberculeuses	32 —
Rachitiques cliniquement non tuberculeux	100 —
Total.	869 cas.

	p. 100 de réactions positives
<i>Les maux de Pott</i> , dont le début remonte à moins d'un an, nous ont fourni un pourcentage de	68,3
De 1 an à 2 ans	78,6
De 2 à 3 ans.	61,0
Au delà de 3 ans	37,5

Chez les pottiques fistuleux, avec état général grave, la réaction n'a été positive que dans	p. 100 des cas — 40,5
--	-----------------------------

	p. 100 de réactions positives
<i>La tuberculose coxale dont le début remonte à moins</i>	—
d'un an	63,0
De 1 an à 2 ans	67,3
De 2 ans à 3 ans	50,0
Au delà de 3 ans, le pourcentage tombe à	16,0
Dans la coxalgie fistuleuse, il est de.	34,0
 <i>Dans la tumeur blanche du genou remontant à</i>	
moins d'un an, la réaction donne	67,4
De 1 an à 2 ans	69,0
De 2 ans à 3 ans.	55,4
Au-dessus de 3 ans	21,4
Dans le genou fistuleux.	16,0
 <i>Dans les autres lésions ostéo-articulaires tubercu-</i>	
<i>leuses, celles qui remontent à moins d'un an ont donné</i>	65,4
De 1 an à 2 ans.	60,6
De 2 ans à 3 ans	15,0
 <i>Les malades porteurs d'adénites :</i>	p. 100 de résultats positifs
Les lésions datant de moins d'un an ont fourni. . . .	48
— de 1 ans à 2 ans	39
— au-dessus de 2 ans	13,3
 <i>Tuberculoses multiples :</i>	p. 100 de réactions positives
Les lésions multiples de petites articulations ont	—
donné.	56,6
Les locations multiples de grosses articulations	
(genou, hanches, vertèbres).	50
 <i>Les rachitiques (100 sérums), sans manifestations</i>	p. 100 de résultats positifs
tuberculeuses cliniquement appréciables, ont	—
donné	9,8
Ceux à cuti-réaction négative (64 malades).	4,8
Ceux à cuti-réaction positive (36 malades)	15

Notons qu'un de nos petits rachitiques qui a présenté, au mois de décembre 1920, une réaction de fixation positive, alors

que cliniquement rien ne la justifiait, présenta au mois de janvier 1921 un abcès de la jambe qui, d'après la radiographie, fut en rapport avec un foyer tuberculeux juxtagonal du tibia.

Trente-deux personnes atteintes de lésions ostéo-articulaires, cliniquement non tuberculeuses, ont fourni un résultat positif dans 6.25 p. 100. "

CONCLUSIONS

Contrairement à l'opinion généralement admise, on observe dans la tuberculose externe les mêmes modifications du sang que dans la tuberculose viscérale ; elles se traduisent par l'apparition d'anticorps spécifiques, décelables par la réaction de fixation, en présence de l'antigène de Besredka.

Une réaction de fixation positive autorise, sauf de rares exceptions, à conclure à l'existence d'un foyer tuberculeux *en activité* ; la réaction négative ne permet pas de rejeter le diagnostic de tuberculose.

La proportion des réactions positives, très élevée au stade initial, *évolutif* de la tuberculose externe, baisse notablement à l'époque de la cicatrisation des lésions.

LES ORGANES A SÉCRÉTION INTERNE DANS LA GANGRÈNE GAZEUSE EXPÉRIMENTALE

par PAUL VAN GEHUCHTEN.

(Travail du laboratoire de M. Weinberg, à l'Institut Pasteur).

De nombreux travaux d'histologie pathologique ont été consacrés à l'étude des modifications des glandes à sécrétion interne au cours des maladies infectieuses ou des intoxications. Peu d'auteurs cependant ont tenté de faire un travail d'ensemble pour une infection déterminée et d'étudier simultanément les réactions des différents organes contre le germe pathogène. C'est là ce que nous avons entrepris dans une infection aiguë que la guerre a remise en pleine actualité : la gangrène gazeuse.

Nous nous sommes borné dans ce travail à l'étude de la surrénale, de l'hypophyse et de la thyroïde, car il semble bien que, parmi les organes à sécrétion interne, ce soient ceux dont l'atteinte ait une répercussion notable sur l'évolution d'une infection. Nous nous sommes étendu plus longuement sur les lésions de la surrénale, parce que cette glande présente des modifications très caractéristiques qui peuvent aider à comprendre son fonctionnement à l'état normal et dans les états pathologiques.

M. Weinberg, en nous proposant de faire ces recherches dans son laboratoire, a attiré tout spécialement notre attention sur l'intérêt qu'il y aurait à préciser l'état de la fonction adrénalogène surrénale dans les infections anaérobiques. Peut-être serait-il possible, en effet, de renforcer le traitement sérothérapique de la gangrène gazeuse dans les cas très graves et à intervention très tardive par l'addition d'adrénaline au sérum. On pourrait de cette façon suppléer temporairement à une insuffisance médullaire.

HISTORIQUE

Avant d'exposer les résultats de nos recherches expérimentales, nous allons rappeler brièvement quelles sont les lésions ou les modifications fonctionnelles qui ont été décrites dans les organes à sécrétion interne :

- 1° Dans les infections et les intoxications ;
- 2° Dans la gangrène gazeuse.

1. — *Infections et intoxications diverses.*A. — *Médullaire surrénale.*

Charrin et Langlois (1893-1896), Wybauw (1897), dans des cas d'infection aiguë par bacilles pyocyaniques ou diphtériques chez le cobaye, ont constaté une forte hyperémie de la surrénale et des petits foyers d'hémorragies au niveau de toutes les couches glandulaires. L'extrait de ces organes hyperémiés n'a plus qu'une action hypertensive beaucoup moindre qu'à l'état normal.

Reichtmann (1902), dans la diphtérie, la scarlatine, la fièvre typhoïde, la rougeole chez l'homme, trouve les mêmes lésions hémorragiques.

Lucksch (1905-1909), après intoxication par le phosphore, après infection diphtérique, colibacillaire, tuberculeuse, staphylococcique chez le lapin, constate la perte ou la diminution de l'action hypertensive de l'extrait surrénal. Il conclut à la diminution de la sécrétion adrénalinique.

Pirone (1911), dans des cas de rage humaine, trouve une infiltration cellulaire intense (lymphocytes, gros mononucléaires, cellules plasmiques). Les cellules chromaffines sont désagrégées et ont le plus souvent perdu leur caractère chromatique.

Porak (1919), au contraire, ne constate pas de variation dans la sécrétion d'adrénaline après intoxication rabique chez le lapin, après tétanos et diphtérie des cobayes et des lapins, poliomyélite du singe, broncho-pneumonie, fièvre typhoïde chez l'homme, intoxication par le mercure, le plomb, la strychnine chez le cobaye. Dans les cas chroniques, il y a diminution de l'action hypertensive ; mais cette diminution n'est que relative, l'adrénaline étant cherchée dans un extrait total d'une glande à corticale hypertrophiée.

B. — *Corticale surrénale.*

Bernard et Bigard (1902-1906), dans l'intoxication par l'arsenic et le mercure chez le cobaye, décrivent des lésions vasculaires allant de la congestion aux hémorragies en foyer. L'intoxication massive (mort en quarante-huit heures) montre une augmentation des graisses osmophiles, une diminution de l'aspect vacuolaire de la spongieuse, la disparition du pigment de la réticulée. L'intoxication atténuée non mortelle se traduit après un à trois jours par une hypertrophie de la spongieuse, une diminution du pigment. L'intoxication lente (plusieurs mois) montre des altérations cellulaires profondes de la spongieuse (les cellules sont atrophiées, ratatinées) et une augmentation du pigment.

Bogomolez (1905-1910), dans la diphtérie expérimentale chez le chat ; Bedson

(1913), dans l'intoxication vermineuse aiguë, signalent des lésions hémorragiques et la disparition de l'aspect vacuolaire de la spongieuse par excrétion des lipoides. Il existe souvent dans cette couche de nombreuses figures de division.

Dans l'intoxication vermineuse chronique chez le cobaye qui réagit bien, Bedson a trouvé la spongieuse notablement hypertrophiée.

Elliot et Tuckett (1906) décrivent dans la surrénale du cobaye des graisses, une substance biréfringente et du pigment brun. Dans la diphtérie, alors que la substance biréfringente et le pigment diminuent, les graisses augmentent.

Weltmann (1913) signale une diminution notable des substances biréfringentes dans la surrénale de l'homme qui a succombé à une infection aiguë (septicémie, fièvre typhoïde, entérite, péritonite, pneumonie croupale). Elles augmentent dans l'artériosclérose, la cirrhose du foie, la néphrite chronique. Les infections expérimentales chez le cobaye lui montrent une diminution comparable de cette substance biréfringente. Les recherches de Aschoff, de Weltmann ont montré que cette substance biréfringente était l'éther de la cholestérine.

Dietrich (1918), dans la péritonite aiguë chez l'homme, trouve une augmentation des lipoides après douze heures, une diminution après dix-huit heures. Après trois à neuf jours, de grandes cellules qui ont probablement un rôle compensateur, apparaissent dans la fasciculée.

C. — Corps thyroïde.

Roger et Garnier ont étudié les lésions du corps thyroïde dans la plupart des maladies infectieuses; Bedson les a étudiées dans l'intoxication vermineuse; Simonds dans les infections septicémiques. La congestion est variable. Il y a parfois des hémorragies. Les vésicules ont souvent un épithélium desquamé. Certaines n'ont plus de colloïde, mais on retrouve dans les vaisseaux lymphatiques du tissu interstitiel une masse considérable de colloïde (Roger).

Dans les cas chroniques, la réaction interstitielle aboutit à la sclérose de l'organe.

D. — Hypophyse.

Pirone (1911), dans la rage chez l'homme, décrit une infiltration cellulaire intense et une diminution des cellules éosinophiles, lorsque l'infection a une évolution lente. Dans les cas de mort rapide, il a trouvé une hyperactivité fonctionnelle de la glande (amitose, nombreuses cellules éosinophiles).

Bedson, dans l'intoxication vermineuse, ne trouve de lésions que dans un cas sur quatre. De nombreuses cellules sont en dégénérescence. L'ectasie vasculaire est légère.

2. — *Gangrène gazeuse.*

Dietrich (1918), dans la gangrène gazeuse chez l'homme, a trouvé une congestion vasculaire intense, de nombreux foyers hémorragiques et de l'infiltration leucocytaire dans la médullaire et la corticale. Dans la corticale, il y a diminution considérable des lipoides, dégénérescence cellulaire et formation de cavités glandulaires.

Dans la médullaire, les lésions sont moindres, la réaction chromaffine est conservée.

Goormachtigh (1918), dans la gangrène gazeuse chez l'homme, signale des transformations profondes.

Pour lui, à l'état normal, la zone spongieuse ne contient que de la graisse labile (lipoides), la zone fasciculée de la graisse indélébile (graisses neutres). Cette dernière zone est sécrétrice. Telle était aussi l'opinion de Bernard et Bigard. Au niveau de la fasciculée s'élaborent les graisses indélébiles qui vont passer dans la spongieuse et devenir labiles.

Après une gangrène gazeuse foudroyante (vingt-quatre heures), le lipoïde de la spongieuse devient indélébile; dans la gangrène gazeuse de trente-six à cent heures, la zone spongieuse disparaît. Elle fait place à une zone excrétrice superficielle où les lipoïdes indélébiles passent dans les lumières glandulaires formées par les dégénérescences cellulaires. La zone fasciculée reste une zone sécrétrice. Vers la soixantième heure, elle s'atrophie, mais alors la glomérulée se transforme et va relever la fasciculée dans son rôle.

Dans les cas à évolution lente (huit jours), de nouveaux îlots spongieux labiles apparaissent, mais ils dépendent cette fois de la glomérulée où se trouvent en grand nombre des graisses indélébiles.

Dans les cas chroniques, la glande est remaniée, la glomérulée s'étend. Elle contient de nombreuses graisses indélébiles (graisses neutres) qui aboutissent à des îlots de graisse labile (lipoïdes).

Dans la moelle les éléments chromaffines prédominent. Il ne peut donc être question d'insuffisance adrénalinique. L'hypersécrétion est la règle.

Il y a peu de lésions pathologiques : quelques foyers hémorragiques et des amas leucocytaires. Dans deux cas sur sept, les lésions sont profondes et ont pu provoquer de l'insuffisance surrénale.

Nous résumons dans le tableau suivant les modifications des inclusions cellulaires de la corticale surrénale telles qu'elles ont été décrites par les différents auteurs dans les infections et les intoxications.

	SUBSTANCES GRASSES en général	CHOLESTÉRINE	GRAISSES NEUTRES	PIGMENT
Intoxication par arsenic et mer- cure (1902) . .	—	Diminution.	Augmentation.	Disparition.
Intoxication ver- mineuse (1913).	Diminution.	—	—	—
Diphthérie (1906).	—	Diminution.	Augmentation.	Diminution.
Septicémie (1913)	—	Id.	—	—
F. typhoïde (1913)	—	Id.	—	—
Péritonite (1913)	—	Id.	—	—
Pneumonie (1913)	—	Id.	—	—
Gangrène gazeu- se (1918) (Goor- machtigh). . .	—	Id.	Augmentation?	—
Gangrène gazeu- se (1918) (Die- trich)	—	Id.	—	—

RECHERCHES PERSONNELLES

Nos recherches ont porté sur soixante-cinq cobayes. Ces animaux utilisés par M. Weinberg pour d'autres expériences ont été injectés, les uns avec des cultures pures de microbes anaérobies, les autres avec des mélanges de cultures d'anaérobies ou de cultures d'aérobies et d'anaérobies.

Voici comment ils se répartissent :

I. — Gangrène gazeuse à <i>B. Perfringens</i>	25 cas.
II. — Gangrène gazeuse à <i>V. septique</i>	10 cas.
III. — Gangrène gazeuse à <i>B. OEdematiens</i>	2 cas.
IV. — Gangrène gazeuse à <i>B. Histolyticus</i>	4 cas.
V. — Gangrène gazeuse putride (<i>Perfringens</i> + <i>Sporogenes</i>)	10 cas.
VI. — Association <i>Perfringens</i> + <i>Proteus</i>	5 cas.
VII. — Association <i>Sporogènes</i> + <i>Proteus</i>	5 cas.
VIII. — Association <i>Histolyticus</i> + <i>Proteus</i>	4 cas.
IX. — Association <i>Oedematiens</i> + <i>Proteus</i>	4 cas.
X. — Association <i>V. septique</i> + <i>Proteus</i>	4 cas.
XI. — Infection par <i>Proteus</i> seul.	1 cas.

TECHNIQUE

L'autopsie des animaux a toujours été pratiquée immédiatement après leur mort, et les pièces fixées dans le formol à 40 p. 100 ou dans le liquide de Bouin pour l'étude histologique générale, dans le liquide de Muller ou d'Erlicki pour la recherche de la réaction chromaffine de la médullaire surrénale, dans le liquide de Meves (pendant huit jours) pour la mise en évidence des graisses de la corticale surrénale. Les coupes de fragments inclus dans la paraffine ont été colorées par l'hématoxyline au fer et l'hématéine-éosine. Les coupes par congélation, après fixation au formol ou au Bouin, nous ont permis d'utiliser les divers procédés de coloration des graisses (Soudan III, Nil, coloration directe par l'acide osmique) et les recherches des corps biréfringents en lumière polarisée entre Nicols croisés.

Nous croyons indispensable, avant d'entrer dans le détail de nos expériences, de donner un court aperçu des données récentes sur la structure

histologique de la corticale surrénale du cobaye, d'énumérer les différentes inclusions cellulaires que l'on y a décrites et les moyens histochimiques qui nous ont permis de les mettre en évidence.

CORTICALE SURRÉNALE DU COBAYE. — A l'état normal, on peut y distinguer quatre couches (Guieysse). La *glomérulée* entoure complètement la glande. Elle est formée de culs-de-sac de cylindres corticaux qui, arrivant à la capsule fibreuse, s'incurvent sur eux-mêmes et forment des follicules (Guieysse). Cette couche n'a guère qu'un à deux follicules d'épaisseur. Elle est formée de petites cellules à gros noyaux, présentant assez souvent des figures de divisions indirectes (Mulon) (1). Elle serait l'origine de toutes les autres couches (Mulon, Bogomolez).

La *spongieuse* représente environ le quart de l'écorce chez le cobaye adulte; les deux tiers chez le cobaye jeune. Elle est formée de grosses cellules polygonales bourrées d'enclaves graisseuses. Guieysse les a appelées des spongiocytes.

La *fasciculée* continue insensiblement la spongieuse en dedans. Elle est formée de cellules à protoplasme dense. L'hématoxyline au fer y décèle des granulations colorées en noir qui sont de nature pigmentaire (Mulon). Quelques cellules sont vacuolaires et affectent un type de transition entre la spongieuse et la fasciculée. Chez la femelle, cette zone de transition est très développée et constituée d'amas de grosses vacuoles graisseuses.

La *réticulée* a des cellules assez semblables. Les corps sidérophiles s'y retrouvent sous forme de petites gouttes très nombreuses. De nombreuses cellules sont transformées en blocs pigmentaires. D'autres sont en dégénérescence. Leur noyau est petit, ratatiné. Parfois, les cellules l'expulsent; d'autres fois, il se dissout dans le protoplasme et la cellule se désagrège.

INCLUSIONS CELLULAIRES. — On peut mettre en évidence dans la corticale surrénale du cobaye deux variétés de corps gras : les *graisses neutres* et les *lipoides*.

Les *graisses neutres* sont des éthers triacides de la glycérine. On admet, généralement que ces graisses réduisent l'acide osmique et prennent une teinte noire dans la solution osmiée. Mulon a montré que cette propriété n'appartient qu'à l'acide oléique et que seules prenaient une teinte noire les graisses contenant une proportion notable d'oléine. Les autres prennent une teinte bistre, qui ne devient noire que par le passage à l'alcool. Les graisses de la surrénale rentrent dans ce dernier groupe. L'acide osmique leur donne une teinte bistre qui noircit par passage à l'alcool. Il faut donc les considérer comme des graisses pauvres en oléine. Il existe cependant dans les couches les plus externes de la fasciculée quelques inclusions graisseuses qui réduisent directement l'acide osmique. Ce sont ces graisses que Bernard et Bigard appelaient indélébiles; ce sont celles que Goormachtigh décrit sous le même nom.

Les graisses neutres se colorent en rouge par le Soudan, en rouge par le bleu de Nil. Elles sont isotropes, c'est-à-dire ne présentent pas le phénomène de la biréfringence en lumière polarisée.

(1) Nous remercions vivement M. Mulon des précieux renseignements qu'il nous a donnés au sujet de la corticale surrénale du cobaye et de l'extrême obligeance avec laquelle il a bien voulu examiner quelques-unes de nos préparations.

Les *lipoides* forment un groupe complexe. Lambling les classe en lipoides phosphorés, dont les mieux connus sont les *lécithines*; et en lipoides non phosphorés, où se place la *cholestérine*. La *cholestérine* accompagne, en général, la *lécithine*, on la trouve libre ou combinée à l'état d'éther avec les acides gras. Parmi les lipoides de la *surrénale*, l'éther de *cholestérine* occupe une place prépondérante (Aschoff, Weltmann).

L'éther de *cholestérine* se colore en gris par l'acide osmique, mais noircit



FIGURE 1.

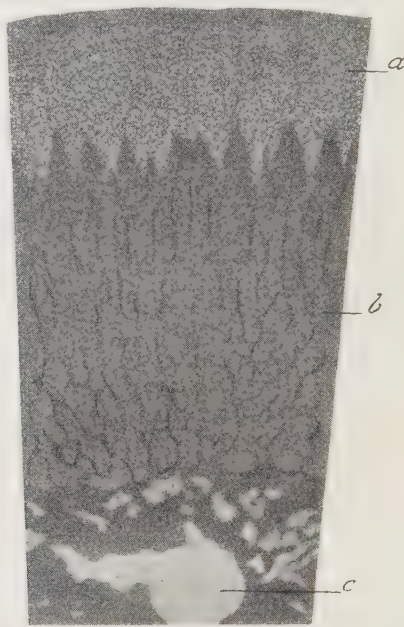


FIGURE 1 bis.

FIG. 1. — Cobaye normal. Coupe par congélation sans coloration. Obj. 3, oc. 2.

FIG. 1 bis. — Cobaye normal. Même préparation vue en lumière polarisée. a) zone spongieuse bourrée de corps biréfringents (cholestérine); b) zones fasciculée et réticulée; c) médullaire.

secondairement dans l'alcool. Il se colore en rouge orange par le Soudan, en rose par le Nil. Ses réactions colorantes sont donc très voisines de celles de la graisse. Mais en lumière polarisée, l'éther de *cholestérine* est biréfringent, ce qui permet de le mettre en évidence avec certitude.

RÉPARTITION. — L'éther de *cholestérine* ne se trouve à l'état normal que dans la spongieuse. Chez la femelle, il occupe également une partie notable de la zone des grandes vacuoles de la fasciculée. Il est partout intimement mêlé aux graisses (fig. 1 et 1 bis).

Les *graisses* se trouvent dans la spongieuse avec la *cholestérine*. On les

trouve également, mais en quantité moindre et sous forme de très fines gouttelettes, dans la glomérulée et la partie externe de la fasciculée (fig. 2).

Le pigment occupe les couches maigres (réticulée et partie interne de la fasciculée). Il est très visible sous forme de granulations brunes sur des coupes non colorées faites par congélation. Il occupe presque toutes les cellules. Parfois il prend un tel développement que les cellules ne sont plus qu'un bloc pigmentaire. Une partie de ces granulations pigmentaires est

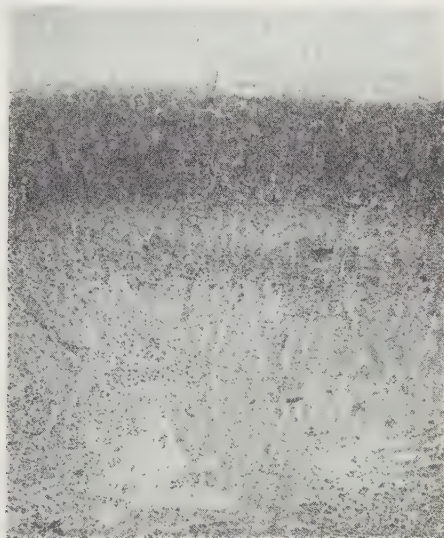


FIG. 2. — Cobaye normal. Zone spongieuse bourrée de graisse colorée en noir par l'acide osmique. Fixé au Meves. Obj. Stiassnie 3, oc. 2.

sidérophile. La zone pigmentaire est beaucoup plus étendue chez le cobaye adulte que chez le cobaye jeune (Mulon).

Nous avons tenté de mettre en évidence les *acides gras libres* de la corticale, mais nous n'avons obtenu que des résultats inconstants.

I — Gangrène gazeuse à *B. perfringens*.

Cobayes injectés avec une culture pure de *B. perfringens* ou avec une toxine obtenue par centrifugation d'une culture de douze à seize heures en bouillon glucosé à 1 pour 1.000.

1° Surrénale.

A. — ANIMAUX MORTS EN DEUX A TROIS HEURES.

C 19 (deux heures). La congestion est très intense dans toute la corticale, surtout dans la réticulée et la zone intermédiaire

entre la spongieuse et la fasciculée. De nombreux foyers d'hémorragie dissocient les couches cellulaires.

La médullaire paraît intacte.

C 6 (une demi-heure). Il y a très peu de congestion et pas de lésions apparentes.

B. — ANIMAUX MORTS EN CINQ A DIX HEURES.

Cobayes : C 11 (cinq heures), C 9 (dix heures), C 40 (dix heures).

1° MORPHOLOGIE. — Coloration hématoxyline-éosine. *Faible grossissement.* Objectif Stiaassnie 4. Ocul. 4).

Les *lésions hémorragiques* sont peu profondes; dans toutes les couches les capillaires sont dilatés. Il y a quelques petits foyers d'hémorragie dans la spongieuse en C. 11. En C. 40, ces foyers sont plus nombreux.

L'aspect général de la corticale a peu changé.

La *glomérulée* est nettement visible avec ses trois ou quatre assises de petites cellules foncées à noyau très colorable.

La *spongieuse* est bien conservée, mais sa disposition est moins régulière qu'à l'état normal. Le protoplasme est plus colorable, les vacuoles ont toutes les dimensions, certaines sont très grosses. Quelques cellules foncées ont presque complètement perdu l'aspect vacuolaire. Les capillaires renferment de nombreuses gouttes de graisse. Les variations individuelles sont assez considérables. C'est ainsi qu'en C 11 (cobaye mort après cinq heures), les grosses vacuoles sont beaucoup plus nombreuses et la sortie des graisses plus active qu'en C 9 (cobaye mort après dix heures).

La *fasciculée* proprement dite continue la spongieuse. En C 9 de nombreuses cellules de la fasciculée sont en dégénérescence; leur noyau est petit, ratatiné et refoulé à la périphérie du protoplasme.

La *réticulée* a un aspect très semblable. Il y a de nombreuses cellules en dégénérescence dans tous les cas. En C 11, les blocs sidérophiles sont très nombreux; ils le sont beaucoup moins en C 9 et en C 40.

Fort grossissement. — Objectif immersion homogène 1/16 Demardelez. Oc. 4.

Il précise quelques détails.

Dans la *glomérulée* en C 11, il y a de nombreuses figures de division directe et indirecte. En C 9 et en C 40, on trouve des noyaux à encoche et des noyaux doubles, tels que Mulon les a décrits dans les cas de division directe.

Les grosses vacuoles observées dans la *spongieuse* sont le plus souvent à proximité des capillaires. Elles y font saillie et parfois paraissent s'y ouvrir.

Dans les cellules en dégénérescence, on voit souvent autour du noyau une vacuole claire. Leur protoplasme montre des plaques de nécrose qui semblent nager dans du liquide. La plupart des cellules de la *fasciculée* et surtout de la *réticulée* ont de fines granulations sidérophiles (pigment). Ces granulations sont originaires du noyau et passent en grand nombre dans les capillaires.

La *médullaire* présente un aspect variable. En C 9, il y a une véritable

fonte cellulaire; de nombreux noyaux se réduisent en granulations chromatiques, le protoplasme se dissout en granulations éosinophiles. L'aspect est semblable, mais moins accusé dans les autres capsules. Partout la rétraction protoplasmique est intense. Dans les espaces clairs, on trouve des débris cellulaires et des lymphocytes.

2° GRAISSES et LIPOIDES. a) *Soudan III*. — La zone graisseuse occupe la moitié de la corticale. Les gouttelettes ont une coloration rouge orangé. La glomérulée en contient très peu, la spongieuse en est remplie, la fasciculée

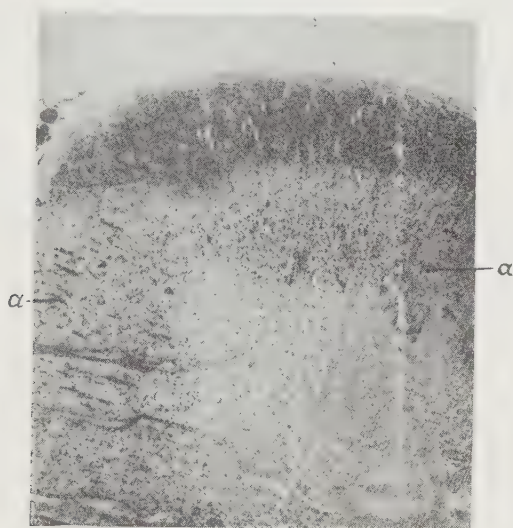


FIG. 3. — Cobaye 11 (cinq heures). Même technique. Capillaires bourrés de graisses (a).

en contient une assez grande quantité (cobayes femelles), la réticulée n'en a pas. Les capillaires ont de nombreuses gouttelettes rouges.

b) *Acide osmique* (avec réduction secondaire).

Il y a sortie abondante des substances grasses. Elles sont notablement diminuées dans la spongieuse, surtout à certaines places; mais les capillaires sont bourrés de gros amas noirs, parfois arrondis, et qui contiennent souvent des vacuoles claires. D'autres cellules encore remplies montrent de grosses gouttes rangées marginalement (fig. 3).

3° *ETHER DE CHOLESTÉRINE* (lumière polarisée). — L'aspect est encore très voisin de celui d'une capsule normale. Les corps biréfringents (gouttelettes à croix de polarisation) sont nombreux et occupent la spongieuse et la zone externe de la fasciculée.

4° *PIGMENTS* (Examen des coupes fraîches). — Ils sont peu nombreux en C 9 et C 40, plus nombreux en C 11. Les cellules de la réticulée ont une légère teinte brunâtre et, entre les cellules, on trouve des blocs pigmentaires jaunâtres. Ces cobayes sont des animaux jeunes.

5° RÉACTION CHROMAFFINE MÉDULLAIRE. — Elle est encore intense, bien que moindre qu'à l'état normal. Certaines cellules sont pâles, d'autres sont déjà totalement décolorées.

En résumé, à ce premier stade, les lésions hémorragiques

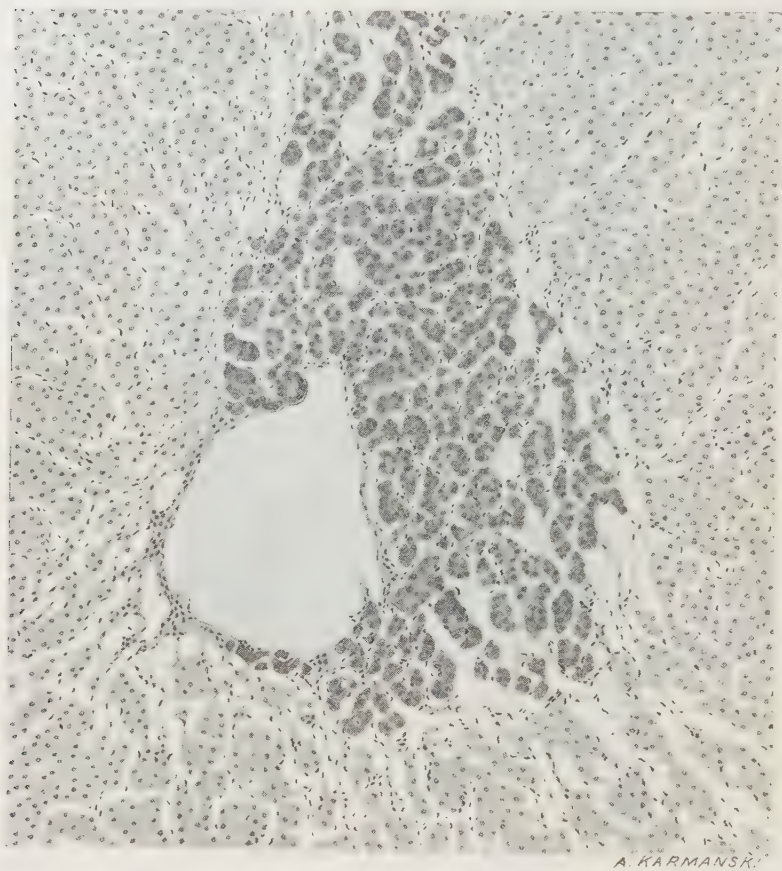


FIG. 4. — Médullaire normale. Réaction chromaffine. Gross. 80/1.

sont peu profondes, les dégénérescences cellulaires sont plus intenses qu'à l'état normal au niveau des couches maigres (fasciculée et réticulée) et de la médullaire. La réaction cellulaire se traduit par des mitoses au niveau de la glomérulée. D'une part, il y a *sortie abondante des substances grasses de la spongieuse* ; d'autre part, *décharge pigmentaire* au niveau de la réticulée. *La réaction chromaffine médullaire est diminuée.*

C. — ANIMAUX MORTS EN DIX A CINQUANTE HEURES.

Cobayes : C 24 (dix-neuf heures), C 15, C 16 (vingt heures), C 2 (vingt-quatre heures), C 8 (vingt-six heures), C 22 (vingt-

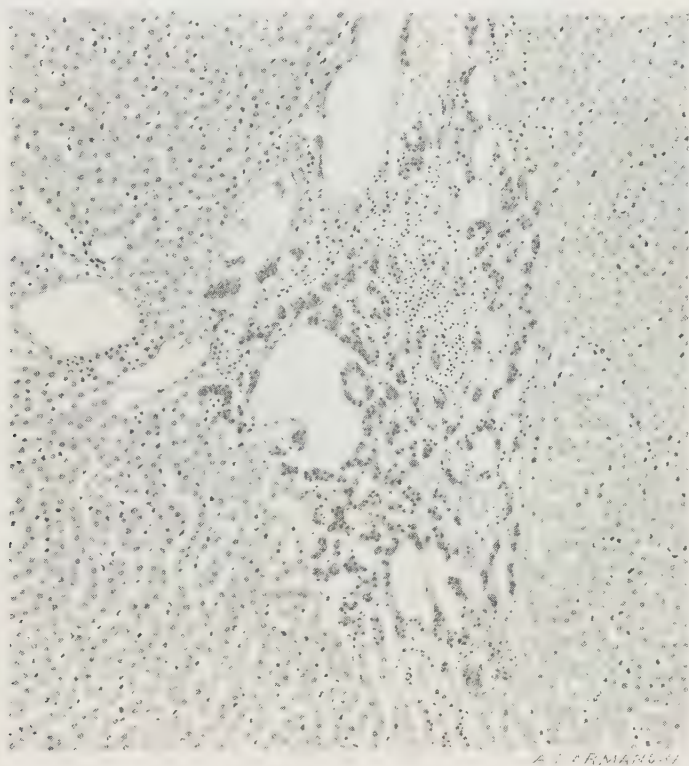


FIG. 5. — Cobaye 25. Médullaire. Forte diminution de la réaction chromafine. Rétractions cellulaires. Quelques amas leucocytaires. Gross. 80/1.

sept heures), C 36 (trente-six heures), C 24 et C 25 (quarante-cinq heures).

1° MORPHOLOGIE. Coloration hématoxyline-éosine. *Faible grossissement.* — Les lésions hémorragiques sont variables mais toujours intenses. Dans un cas (C 8), il y a rupture de la veine centrale et hémorragie médullaire. Dans tous les cas, il y a une très forte congestion corticale, surtout marquée au niveau de la partie interne de la spongieuse et externe de la fasciculée. Il y a souvent rupture vasculaire et les tissus sont par places dissociés par l'infiltration sanguine.

L'aspect général de la corticale s'est notablement modifié, mais les variations individuelles sont assez considérables.

La *glomérulée* est bien distincte. Par places, elle pénètre dans la spongieuse et se continue insensiblement avec elle.

La *spongieuse* est profondément modifiée. L'aspect vacuolaire régulier de la corticale normale a disparu. Certaines cellules ont de grosses vacuoles, d'autres ont un protoplasme presque uniforme.

En C 8, l'aspect est un peu spécial. Toute la corticale est en voie d'atrophie. Cette atrophie est peut-être la conséquence de la très forte hémorragie centrale.

Dans les autres cas, les couches tendent à s'uniformiser; l'aspect de la spongieuse se rapproche de celui de la fasciculée.

Les gros blocs pigmentaires de la *réticulée*, nombreux en C 8, sont peu nombreux dans les autres capsules.

Fort grossissement. — Dans la *glomérulée*, il y a quelques figures de division directe et indirecte.

Dans la *spongieuse* on trouve tous les types de transition entre les cellules vacuolaires normales et les cellules à protoplasme granuleux sans vacuole. Dans les capillaires, il y a d'assez nombreuses gouttes de graisse. La dégénérescence cellulaire ne semble pas plus accentuée qu'à l'état normal sauf en C 8.

Les *granulations* sidérophiles sont moins nombreuses dans les couches internes qu'à l'état normal.

(C 15, 16, 21, 22 sont des animaux adultes.)

Dans la médullaire de nombreuses cellules ont un protoplasme rétracté, mais leur noyau est d'aspect normal. Quelques cellules sont en dégénérescence. Il y a quelques amas de lymphocytes.

2° GRAISSES ET LIPOIDES. a) *Soudan III.* — Diminution considérable des substances grasses. La *glomérulée* en contient en petite quantité; les assises cellulaires voisines de la spongieuse en contiennent une assez grande quantité; mais dans tout le restant de la couche, la diminution est très marquée. Les capillaires contiennent beaucoup de graisses. Dans la fasciculée et la *réticulée*, d'assez nombreuses cellules ont des gouttelettes rougeâtres.

b) *Acide osmique.* — L'aspect est identique. Il semble que la *glomérulée* contienne plus de graisse qu'à l'état normal.

3° ETHER DE CHOLESTÉRINE. — Il y a diminution énorme de la substance biréfringente. On en trouve encore dans la spongieuse juxta-glomérulaire et par places dans le restant de cette même couche.

4° PIGMENTS. — Le pigment a considérablement diminué, sauf en C 8. La diminution porte surtout sur le pigment intracellulaire.

5° RÉACTION CHROMAFFINE. — Elle est beaucoup moins intense qu'à l'état normal. De nombreuses cellules sont décolorées (fig. 4, 5 et 6). Les cordons cellulaires sont beaucoup plus grêles qu'à l'état normal.

En résumé, à ce stade, les lésions hémorragiques sont assez intenses, la dégénérescence cellulaire ne paraît pas plus marquée, la réaction cellulaire se traduit par quelques figures de division directe et indirecte dans la zone glomérulaire et juxtaglomérulaire. La décharge des substances grasses (graisses neutres

et cholestérine) est très intense. Ces substances se retrouvent en quantité notable dans les capillaires ; mais *les graisses neutres font leur apparition dans la zone maigre* (couches réticulée et fasciculée) *et augmentent dans la glomérulée*. Le pigment de la réticulée a notablement diminué. La réaction

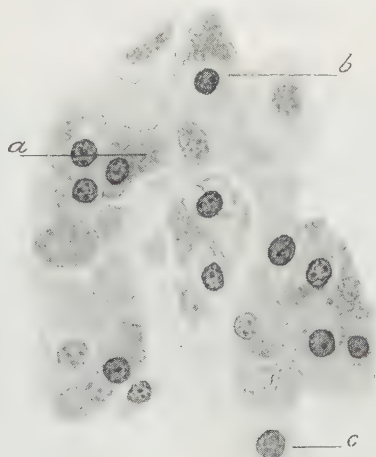


FIG. 6. — Cobaye 25. Fort grossissement: a) cellule chromaffine; b) cellule partiellement décolorée; c) cellule décolorée. Gross. 650/1.

chromaffine médullaire est très affaiblie, ce qui traduit *un appauvrissement de la surrénale en adrénaline*.

D. — ANIMAUX MORTS EN PLUS DE CINQUANTE HEURES.

Cobayes : C 12 (cinquante-deux heures), C 17 (cinquante-huit heures), C 30 (quatre-vingts heures), C 28 (quatre-vingt-seize heures), C 13 (cent heures), C 32 (cent soixante-dix heures).

1° MORPHOLOGIE. Hématoxyline-éosine. *Faible grossissement*. — Les lésions hémorragiques sont moins accusées qu'au stade précédent. En C 12 et C 17, la congestion est intense dans la zone corticale moyenne. Dans les autres cas, la corticale est intacte, la moelle est assez congestionnée.

En C 28, C 13, la glomérulée et la spongieuse se continuent l'une l'autre, presque sans marque de démarcation. La partie externe de cette zone est vacuaire, la partie interne qui correspond à une notable partie de l'ancienne spongieuse est uniforme. Au contraire, l'ancienne fasciculée et la plus grande partie de la réticulée sont nettement vacuolaires. De nombreuses cellules ont même l'aspect de spongiocytes.

Fort grossissement. — Toute la couche externe renferme de très nombreuses figures de division. Au contraire, la zone interne montre de très nombreuses cellules en dégénérescence. Les blocs et les granulations sidérophiles sont très peu nombreux dans la réticulée. Médullaire : on observe souvent de la rétraction protoplasmique, de la congestion et de l'infiltration leucocytaire. Dans certaines capsules, il y a des dégénérescences cellulaires.

2° GRAISSES ET LIPOIDES. a) *Soudan*. — La zone spongieuse est presque *privée* de graisse, sauf dans sa portion externe juxta-glomérulaire. La glomérulée

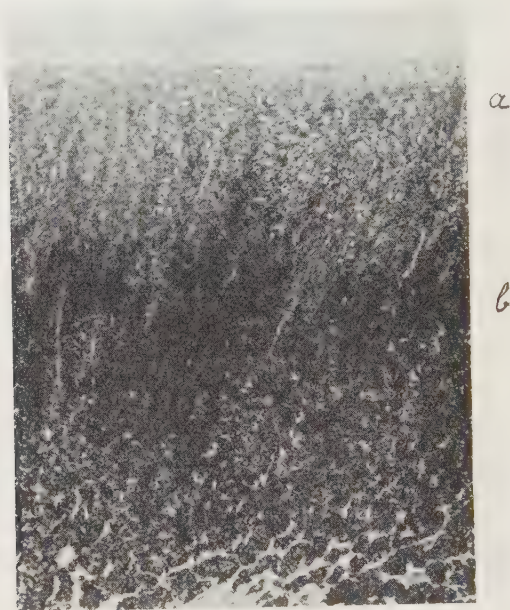


FIG. 7. — Cobaye 13 (cent heures). Même technique : a) zone spongieuse sans graisse; b) zones fasciculée et réticulée remplies de graisses.

en contient en quantité considérable, de même que la fasciculée et la réticulée.

b) *Acide osmique*. — La disposition est identique (fig. 7). On trouve de la graisse dans les capillaires au niveau de la zone grasse externe et dans la zone grasse médiane.

3° CHOLESTÉRINE. — En C 12, il persiste de très rares corps biréfringents dans la spongieuse. En C 30, tout a disparu. En C 28, C. 13, C. 32, la spongieuse n'en contient plus. Mais en C 28, il en apparaît une quantité assez considérable dans la nouvelle zone grasse; en C 13, il en apparaît dans cette zone et en très faible quantité au niveau de la glomérulée (fig. 8 et 8 bis), en C 32 en quantité plus considérable au niveau de la glomérulée.

4° PIGMENTS. — En C 28 et C 32, il en persiste quelques blocs. En C 13, ils ont totalement disparu. C 13 est un cobaye adulte.

3^o RÉACTION CHROMAÏNE. — Elle est assez bien conservée en C 30. Elle est, au contraire, très faible en C 28.

En résumé, à ce stade les lésions hémorragiques sont moins marquées, la dégénérescence cellulaire est très avancée dans les couches internes, mais la réaction cellulaire est d'une intensité égale dans l'ancienne spongieuse.

Les graisses neutres ont presque disparu de la spongieuse,

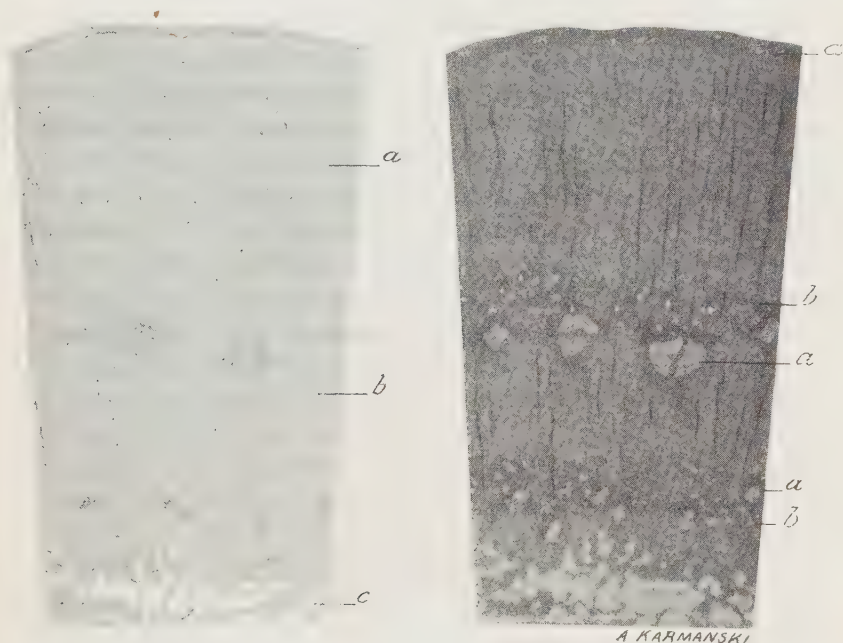


FIGURE 8.

FIGURE 8 bis.

FIG. 8. — Cobaye 13 (cent heures). Coupe par congélation, non colorée : a) spongieuse ; b) fasciculée et réticulée ; c) médullaire.

FIG. 8 bis. — Cobaye 13. Même préparation vue en lumière polarisée : a) Amas de cholestérine présentant au fort grossissement la croix de polarisation ; b) Cristaux biréfringents, qui sont peut-être des acides gras.

sauf dans quelques assises cellulaires externes ; mais elles sont apparues en quantité considérable au niveau des anciennes couches maigres. Elles ont augmenté dans la glomérulée.

La cholestérine a disparu totalement dans plusieurs cas. En C 13 et C 28, elle apparaît en minime quantité dans la nouvelle zone grasse.

Lorsque l'évolution a été plus longue, comme en C 32, la dégénérescence cellulaire des couches internes est plus intense, la graisse y est en diminution ; par contre, la réaction glomérulaire est plus manifeste et une nouvelle zone grasse se forme dans la spongieuse externe. *On y trouve parfois de la cholestérine en petite quantité.*

Le pigment de la zone réticulée a presque totalement disparu.

La disposition que nous décrivons ici est très comparable à celle que Goormachtigh a décrite chez un homme atteint d'une gangrène gazeuse ayant évolué en trois ou quatre jours ; mais nous ne pouvons adopter son interprétation. La glomérulée ne relève pas la fasciculée dans son rôle. Elle ne fait que reprendre le rôle qui lui est dévolu et qui consiste à participer à la régénération de la couche spongieuse. Après une infection grave de trois ou quatre jours, la spongieuse débarrassée d'une grande partie de ses graisses se régénère activement, et c'est pendant cette période que la fasciculée se charge de graisse. Mais cet effort vicariant dépasse la vitalité des cellules de la fasciculée ; cette couche s'atrophie. A ce moment déjà, de nombreuses graisses réapparaissent dans la spongieuse, elles vont s'y accumuler progressivement de l'extérieur vers l'intérieur suivant un processus qui est le même chaque fois que la corticale surrénale se charge de graisse.

Il ne peut donc être question à ce stade d'une inversion de la corticale. L'inversion existe au stade précédent tel que nous l'avons décrit, et c'est la fasciculée qui relève temporairement la spongieuse dans son rôle. Rien n'autorise non plus Goormachtigh à affirmer que la cholestérine réapparaît dans la corticale parce qu'il y trouve des îlots de graisse labile. Des graisses neutres insuffisamment fixées par l'acide osmique, ou dissoutes par les réactifs, peuvent parfaitement donner cet aspect. L'examen en lumière polarisée, par la méthode de la biréfringence peut seul donner la certitude et Goormachtigh n'a pas utilisé cette méthode. Pour la même raison, la topographie des graisses de la corticale humaine normale, telle que cet auteur l'a décrite, est sujette à caution.

Il est fort possible qu'une notable partie des graisses qui apparaissent dans la zone interne après deux, trois ou quatre jours

d'infection, soit originaire de la spongieuse. Nous ne croyons pas cependant que toutes les graisses aient cette origine; d'abord parce que les substances grasses de la fasciculée et de la réticulée sont souvent très nombreuses, alors qu'une notable partie des graisses de la spongieuse se perd dans la circulation générale, ensuite parce qu'il est fréquent de trouver une quantité abondante de graisses dans les couches internes sans que les capillaires en contiennent beaucoup.

Quant à la cholestérine, qui réapparaît dans quelques cas au niveau de la même zone interne, nous croyons qu'elle n'est jamais d'origine spongieuse. En effet, nous n'en trouvons jamais dans les stades de début, alors qu'elle est déversée dans le sang avec la graisse en grande quantité et alors que ces graisses font leur apparition dans la zone interne. Nous n'avons trouvé de cholestérine dans la fasciculée et réticulée qu'aux stades tardifs, lorsqu'elle avait disparu depuis longtemps de la spongieuse et lorsque les anciennes zones maigres étaient devenues depuis de nombreuses heures une couche grasse. *C'est ce qui nous porte à croire que la cholestérine a été produite sur place à ce niveau.*

2° Hypophyse.

La congestion est toujours assez intense, mais nous n'avons jamais observé d'hémorragies. Il y a parfois dans le lobe épithélial une légère infiltration leucocytaire.

Sur les coupes colorées à l'hématéine-éosine, on ne trouve que fort peu de cellules éosinophiles; les cellules colorées en violet pâle, cellules cyanophiles, sont nombreuses, mais la majeure partie des cellules ne présente aucune coloration. Sur les coupes colorées à l'hématoxyline au fer, ces cellules incolores se teignent en violet foncé. Ce sont les cellules sidérophiles de Launois et Mulon dont le nombre a considérablement augmenté. Parfois dans les capillaires on trouve des granulations sidérophiles.

Ces modifications sont d'autant plus marquées que la survie a été plus longue. Il semble que l'on puisse conclure à un hyperfonctionnement de la partie épithéliale de l'hypophyse.

Nous n'avons pas trouvé de modifications dans le lobe nerveux.

3° *Thyroïde.*

Les lésions de la glande thyroïde sont peu importantes. La congestion est modérée. Les vésicules apparaissent toujours bien remplies de substance colloïde. Dans les cas où la survie a été assez longue (quarante-huit heures), il y a souvent une légère desquamation épithéliale. L'hyperexcrétion est loin d'être la règle. Nous l'avons observée dans deux ou trois cas. Dans les autres thyroïdes, nous n'avons mis en évidence aucun changement fonctionnel appréciable.

Ces modifications de l'hypophyse et de la thyroïde sont les mêmes dans toutes les infections anaérobies. Nous ne reviendrons plus sur les lésions de ces organes dans les expériences qui suivent.

II. — Gangrène gazeuse à vibrion septique.

Cobayes injectés avec une culture pure de vibrion septique (culture de seize à vingt-quatre heures en bouillon glucosé à 0,5 p. 1.000, 9 cobayes : 4, 7, 10, 14, 18, 20, 55, 59, 62), ayant succombé en un temps variant de dix à trente heures.

Les modifications sont absolument comparables à celles que nous avons décrites pour le *Perfringens*. La congestion est toujours très intense au niveau de la médullaire et de la corticale. Il y a une diminution considérable des substances grasses de la corticale et une diminution assez notable de l'éther de cholestérine. Dans la plupart des capsules, le pigment est moins abondant qu'à l'état normal. La réaction chromaffine médullaire a diminué.

III. — Gangrène gazeuse à *B. œdematiens*.

Cobayes injectés avec une culture pure d'*œdematiens* (culture de vingt-quatre à quarante-huit heures en bouillon non sucré). C 5, C 58 (trente à trente-cinq heures).

La congestion médullaire est très abondante en C 5 et on y trouve de nombreux foyers hémorragiques à la limite de la fasciculée et de la spongieuse. La congestion est moindre en C 58.

La substance médullaire paraît altérée dans les deux cas. Les cellules ont un protoplasme rétracté et un petit noyau.

L'aspect vasculaire de la spongieuse a diminué. Les graisses et la cholestérine ont diminué dans la spongieuse bien qu'en quantité encore considérable. Le pigment est abondant. La réaction chromaffine médullaire est intense.

IV. — Gangrène gazeuse à *B. histolyticus*.

Cobayes injectés avec une culture d'*Histolyticus* (culture de seize heures en bouillon non sucré). C 54 (quatorze heures), C 48 (trente-six heures), C 65 (quarante-cinq heures), C 60 (soixante-douze heures).

Les modifications sont absolument comparables à celles que nous avons déjà décrites. Il est intéressant de constater qu'en C 60 il apparaît de la cholestérine au niveau de la fasciculée.

V. — Association *Perfringens* + *Sporogenes*.

Cobayes : C 38 (16 heures), C 29 (20 heures), C 47 (22 heures), C 46 (36 heures), C 39 (48 heures).

Les lésions hémorragiques ne sont très intenses qu'en C 38. Le médullaire est à peine reconnaissable; la réticulée et la fasciculée sont dissociées. Dans les autres cas, il n'y a que de la congestion surtout marquée à l'union de la spongieuse et de la fasciculée.

Les modifications des graisses, du pigment et de l'adrénaline sont comparables à celles que nous avons décrites pour le *Perfringens*. Il est intéressant de noter qu'en C 39 (cobaye femelle), il persiste une quantité assez notable de cholestérine bien que la mort soit survenue en 48 heures.

VI. — Association *Perfringens* + *Proteus*.

Cobayes : C 49, C 50, C 51 (10 heures).

Les lésions hémorragiques sont très intenses. Il y a des hémorragies médullaires et corticales, et de nombreuses dégénérescences cellulaires dans la fasciculée, la réticulée et la médullaire.

Les graisses ont fort diminué. Les capillaires sont bourrés de graisse.

VII. — Association *Sporogenes* + *Proteus*.

Cobayes : C 42 (6 heures), C 43 (20 heures), C 45 (36 heures), C 44 (90 heures).

MORPHOLOGIE. — Les lésions hémorragiques sont très considérables, surtout au niveau de la médullaire et de la réticulée. Toutes les couches sont congestionnées. L'aspect vacuolaire, peu altéré en C 42, est très altéré en C 45 et C 44; de nombreuses cellules de la réticulée et de la fasciculée sont en dégénérescence. Les cellules médullaires paraissent très altérées (dissociation cellulaire et rétraction de noyau).

GRAISSES ET LIPOIDES. — Les substances grasses ont notablement diminué dans la spongieuse. En C 44, elles sont nombreuses au niveau des couches internes.

CHOLESTÉRINE. — Très diminuée dans la spongieuse. En C 44, il y en a des quantités considérables dans la fasciculée (zone vacuolaire du cobaye femelle), mais aussi dans la réticulée.

RÉACTION CHROMAFFINE. — De nombreuses cellules sont très décolorées.

VIII. — Association *Histolyticus* + *Proteus*.

C 52 (20 heures).

Il y a une congestion très intense surtout marquée à l'union de la spongieuse et de la fasciculée. Les tissus sont dissociés et quelques cellules dégènèrent. De nombreuses cellules sont en dégénérescence dans la réticulée. La moelle est d'aspect presque normal. Quelques cellules semblent en dégénérescence.

IX. — Association *Œdematiens* + *Proteus*.

X. — Association *Vibrion septique* + *Proteus*.

C 57 (50 heures), C 66 (52 heures).

Dans ces deux associations, la congestion est peu accentuée. Il n'y a pas d'hémorragie, pas de dégénérescence cellulaire. La moelle est en bon état.

XI. — Infection par *Proteus*.

Cobaye injecté avec une culture pure de *Proteus*. C 41 (10 heures).

Énormes lésions hémorragiques. La médullaire et la réti-

culée sont dissociées; la fasciculée est congestionnée. De nombreuses cellules dégénèrent.

Les graisses sont encore très abondantes, sous forme de grosses gouttes.

La cholestérine a notablement diminué.

ANIMAUX A LÉSIONS ÉVOLUANT VERS LA GUÉRISON.

Cobaye C 33 (*Perfr.* + Sporog., tué après 60 heures).

— C 26 (*Perfr.* + Sérum, tué après 70 heures).

— C 56 (*Perfr.* + Sporog., tué après 9 jours).

— C 31 (*Perfr.* + Sporog., tué après 90 heures).

— C 35 (*Perfr.* + Sporog., tué après 10 jours).

1° MORPHOLOGIE. — La corticale est congestionnée. La spongieuse a son aspect normal, mais on y décèle de très grosses vacuoles. En C 31 et C 35, la couche spongieuse est hypertrophiée; la glomérulée a des figures de division. La fasciculée est normale. La réticulée a d'assez nombreuses cellules en dégénérescence, surtout en C 35. Il y a des pigments et des granulations sidérophiles,

La médullaire paraît normale.

2° GRAISSES ET LIPOIDES. — Un peu diminuées en C 33, elles paraissent augmentées dans les autres cas. On en trouve beaucoup dans les capillaires.

3° CHOLESTÉRINE. — La cholestérine existe en quantité considérable en C 33 et C 26. Elle paraît diminuée en C 35.

4° RÉACTION CHROMAFFINE. — Elle est assez bien conservée en C 31. Elle paraît à peu près normale en C 35.

En résumé, dans les cas évoluant vers la guérison, les graisses neutres sont plutôt augmentées bien qu'il en passe dans les capillaires. La réaction chromaffine reste voisine de la normale.

CONCLUSIONS

Il résulte de l'ensemble de ces recherches que les modifications des glandes à sécrétion interne dans les infections causées par les microbes anaérobies sont comparables à celles qui ont été observées dans les infections et les intoxications les plus diverses (infections par microbes aérobie, intoxications vermineuses). Les modifications sont peu accusées au niveau de la thyroïde et de l'hypophyse, elles sont très profondes au niveau des capsules surrénales.

Au niveau de la *thyroïde*, la congestion est toujours modérée; nous n'avons observé que dans quelques cas de l'hyper-excrétion, se traduisant par une augmentation de la substance colloïde dans les lymphatiques.

Au niveau de l'*hypophyse*, la congestion est également peu intense. Il y a augmentation des cellules sidérophiles, ce qui semble traduire un hyperfonctionnement glandulaire.

Au niveau de la *surrénale*, dans certaines infections mixtes (Anaérobies + *Proteus*), les lésions hémorragiques ont toujours présenté une gravité extrême. En dehors de ces cas-là, il est plutôt rare que les lésions vasculaires soient assez profondes pour qu'elles puissent à elles seules être la cause d'une insuffisance surrénale. Le plus souvent, les modifications fonctionnelles l'emportent sur les lésions hémorragiques.

Ces modifications portent aussi bien sur la couche corticale que sur la couche médullaire.

Au niveau de la couche corticale, elles se caractérisent par la *décharge des substances grasses de la spongieuse dans le sang*. La spongieuse s'appauvrit au point de perdre toute sa cholestérine, en quarante-huit heures environ. *Les graisses neutres disparaissent plus lentement. Elles persistent et même augmentent dans la glomérulée et les quelques assises cellulaires voisines. Elles apparaissent en quantité notable dans les couches maigres internes. Ces couches se déchargent de leurs granulations pigmentaires. Dans quelques cas, on peut voir apparaître au niveau de ces nouvelles couches grasses une faible quantité de cholestérine.* Nous croyons que cette cholestérine est produite par la capsule surrénale, nous en avons exposé plus haut les raisons.

Il nous semble que cette apparition de cholestérine en pleine infection, à un endroit où à l'état normal on n'en trouve jamais dans la capsule, confirme l'opinion de Mulon, de Chauffard, Guy Laroche et Grigaut, sur le rôle cholestérinogène de la *surrénale*.

Lorsque la survie de l'animal est plus longue et atteint sept à huit jours, on constate que les graisses accumulées dans la fasciculée et la réticulée diminuent et que ces couches s'atrophient; mais la spongieuse reprend son rôle et se recharge de graisses. *C'est une tentative de retour à l'état normal.*

Au niveau de la couche médullaire, les modifications ne sont

pas moins profondes. Dans la plupart des cas, le *pouvoir chromaffine des cellules est très réduit* et les dégénérescences cellulaires sont fréquentes. Nous n'avons jamais trouvé de processus d'hypersécrétion tels que Goormachtigh les a décrits dans la gangrène gazeuse chez l'homme.

Il est donc logique d'admettre que, dans la plupart des cas que nous avons observés, lorsque les animaux ont présenté une survie suffisante pour avoir le temps d'ébaucher la lutte contre l'infection, il y ait eu à la fois *insuffisance corticale* par défaut de cholestérine et insuffisance *médullaire* par *affaiblissement* de la sécrétion d'adrénaline.

L'hypothèse de M. Weinberg, que nous énoncions au début de ce travail, trouve sa confirmation dans les faits que nous avons mis en évidence, et nous croyons qu'il y aurait un réel intérêt dans les cas graves à essayer de renforcer le traitement sérothérapique par l'addition d'adrénaline.

Quant au rôle de la cholestérine dans la lutte contre l'infection, le fait que, dans plusieurs cas, notamment chez des cobayes femelles ayant succombé à l'infection, il persiste une quantité abondante de cholestérine dans la corticale, tend à prouver que cette substance, tout en jouant un rôle probablement important dans la neutralisation des toxines, ne peut pas à elle seule protéger l'organisme contre l'infection.

BIBLIOGRAPHIE

- ASCHOFF, Zur Morphologie der Lipoïdensubstanzen. *Ziegler*, 1910, 97.
- ALBRECHT et WELTMANN, Ueber das Lipoïd der Nebennierenrinde. *Wien. klin. Woch.*, 1911, 14.
- BEDSON, Lésions des organes à sécrétion interne dans l'intoxication vermineuse. *Ces Annales*, 1913.
- BERNARD et BIGART, Etude anatomo-pathologique des surrénales dans quelques intoxications expérimentales. *Journ. de Physiol. et de Path. gén.*, 1902.
- Lésions des glandes surrénales au cours de l'intoxication biliaire expérimentale. *C. R. Soc. de Biol.*, 1906, p. 410.
- BIDEL. *Innere Sekretion*, Berlin, 1913.
- BOGOMOLEZ, Zur Frage über die Veränderungen der Nebenniere bei experimenteller Diphtérie. *Ziegler*, 1903, 38.
- Ueber die Hypersekretion von Lipoidsunstanzen durch die Rinde der Nebenniere bei experimentellem Botulismus. *Zeitsch. f. Immunitätsf.*, 1910, 8.
- CHARRIN et LANGLOIS. *C. R. Soc. de Biol.*, 1893, p. 812; 1894, p. 99; 1896, p. 131.
- CHAUFFARD, GUY LAROCHE, et GRIGAUT, Le taux de la cholestérine dans les infections. *C. R. Soc. de Biol.*, 1911, p. 20, 70, 108, 536, 568, 853.

CHAUFFARD, GUY LAROCHE et GRIGAUT, Les lipoides en pathologie. *Rapport au XIV^e Congrès français de médecine*, Bruxelles, 1920.

DIETRICH, Nebennieren bei den Wundinfektionskrankheiten. *Centralb. f. allg. Pathol.*, 1918.

ELLIOT et TUCKET, Cortex and Medulla in the suprarenal glands. *Journ. of Physiol.*, 1906, **34**.

GERINGER, Ueber Nebennierenveränderungen bei Gasbrand. *Wien. klin. Woch.*, 1917, n° 30.

GOORMACHTIGH, Les capsules surrénales dans la gangrène gazeuse. *Arch. de Méd. expér.*, 1918.

GRIGAUT, Le cycle de la cholestérinémie. *Thèse de Paris*, 1913.

GUIEYSSE, La capsule surrénale du cobaye. *Thèse de Paris*, 1901.

KAWAMURA, *Die Cholesterinesterverfettung*, 1911.

KRYLOW, Experiment. Studien über Nebennierenrinde. *Ziegler*, 1914.

LANDAU, Nebenniere und Fettstoffwechsel. *Deutsche med. Woch.*, 1912-1913.

LANDAU et MAC NEE, Zur Physiol. des Cholesterinstoffwechsels. *Ziegler*, 1914.

LAUNOIS et MULON, Cellules cyanophiles de l'hypophyse. *C. R. Soc., de Biol.*, mars 1903.

LAUNOIS, Cellules sidérophiles de l'hypophyse. *C. R. Soc. de Biol.*, mars 1903.

LUKSCH, Funktionstörungen der Nebennieren bei Intoxikationen und Infektionen. *Wien. klin. Woch.*, 1905, **14**.

(A.) MARIE, Glande surrénale et toxi-infection. *Ces Annales*, mars 1918.

MULON, Sur le pigment des capsules surrénales. *C. R. de l'Assoc. des Anatomistes*, Liège, 1903.

— Modification de la corticale surrénale du cobaye avec l'âge de l'animal. *C. R. Soc. de Biol.*, 28 octobre 1905.

— Excrétion des capsules surrénales. *C. R. Soc. de Biol.*, 27 décembre 1902.

— Action de l'acide osmique sur les graisses. *Bibliogr. anatomique*, fasc. 4, **13**.

— Divisions nucléaires de la couche glomérulaire des capsules surrénales du cobaye. *C. R. Soc. de Biol.*, 9 mai 1903, 9 décembre 1905.

— Spécificité de la réaction chromaffine. *C. R. Soc. de Biol.*, 23 janvier 1904.

— Sur une localisation de la lécithine dans les capsules surrénales du cobaye. *C. R. Soc. de Biol.*, 17 janvier 1903.

PIRONE, Altération de l'hypophyse et de la surrénale dans la rage. *Arch. de méd. expér.*, 1911, p. 127.

PORAK, L'hypertrophie et la teneur en adrénaline des surrénales dans les infections, les intoxications et certains états d'immunité. *Journ. de Physiol. et de Path. gén.*, 1919, n° 1.

REICHTMANN, Cité d'après Bogomolez.

ROGER et GARNIER, Neue Untersuchungen über den Zustand der Schilddrüse bei den Pocken. *Virchows Archiv*, 1903, **74**.

— La glande thyroïde dans les maladies infectieuses. *Presse Médicale*, avril 1899.

SIMONDS, Die Schilddrüse bei akuten Infektionskrankheiten. *Ziegler*, 1916.

WEINBERG et SÉGUIN, *La gangrène gazeuse*, Paris 1920.

WELTMANN, Ueber das doppeltbrechende Lipoid der Nebenniere. *Ziegler*, 1913, **56**.

WYBACW, Cité d'après Bogomolez.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.